

André Roberto Da Silva Colla

**Efeito tipo-antidepressivo de espécies do gênero *Eugenia* L. e  
envolvimento dos sistemas monoaminérgicos na ação de *Eugenia  
brasiliensis* Lamarck no teste de suspensão pela cauda em  
camundongos**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós Graduação em Neurociências da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do Grau de  
Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia  
Severo Rodrigues

Florianópolis  
2012

Catálogo na fonte elaborada pela biblioteca da  
Universidade Federal de Santa Catarina

C697e Colla, André Roberto da Silva

Efeito tipo-antidepressivo de espécies do gênero *Eugenia* L. e envolvimento dos sistemas monoaminérgicos na ação de *Eugenia brasiliensis* Lamarck no teste de suspensão pela cauda em camundongos [dissertação] / André Roberto Da Silva Colla ; orientadora, Ana Lúcia Severo Rodrigues. - Florianópolis, SC, 2012.

83 p.: grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

Inclui referências

1. Neurociências. 2. Depressão. 3. *Eugenia*. I. Rodrigues, Ana Lucia Severo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

CDU 612.82

André Roberto Da Silva Colla

**Efeito tipo-antidepressivo de espécies do gênero *Eugenia* L. e  
envolvimento dos sistemas monoaminérgicos na ação de *Eugenia  
brasiliensis* Lamarck no teste de suspensão pela cauda em  
camundongos**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de  
“Mestre em Neurociências”, e aprovada em sua forma final pelo  
Programa de Pós Graduação em Neurociências.

Florianópolis, 17 de Fevereiro de 2012.

---

Prof.<sup>a</sup>, Ana Lúcia Severo Rodrigues Dr.<sup>a</sup>.  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Ana Lúcia Severo Rodrigues, Dr.<sup>a</sup>  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Ana Lúcia B. Zeni, Dr.<sup>a</sup>  
Membro Externo da Banca  
Universidade

---

Prof. Rodrigo Bainy Leal, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Pós. Doc. Giordano G. Viola, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina



Este trabalho é dedicado à minha  
família.



## **AGRADECIMENTOS**

À minha família por tudo.

À minha namorada Giseli Caroline Lando, e família, por estarem juntos em todos os momentos.

Ao meu cachorro Freddy por me receber em casa com carinho todos os dias, independente de qualquer coisa.

À professora Ana Lucia Severo Rodrigues, pelo aceite, confiança depositada e orientação prestada.

Aos colegas, e amigos, de laboratório. Todos foram muito importantes durante todo este tempo, e assim continuarão sendo, sempre. Ágatha, Andiara, Camille, Cristiane, Daiane, Daniel, Daniele, Francis, Grasiela, Jaine, Josiane, Julia, Juliana, Juliano, Luana, Luis, Mariana, Maurício, Morgana, Ricardo, Roberto, Sinara, Vivian.

À professora Ines Maria Costa Brighente pela colaboração, atenção e auxílio prestado.

Aos professores do PPG em Neurociências pelos ensinamentos e exemplos prestados.

Aos colegas de Pós-Graduação pela amizade, colaboração e respeito.

Ao Nivaldo, pela atenção, tratamento, amizade e auxílio prestado.

Aos meus amigos, perto ou longe, juntos. Em especial, Cadore, Guilherme, Murilo, Patrick e Pri, Ricardo e Russo.

Lidinei e Fofa, Marcelo (e família) e Tamara, pelos bons momentos juntos.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À todos que de alguma forma colaboraram para a realização de mais uma etapa.





## RESUMO

*Eugenia* é um gênero de plantas com flores pertencente a família Myrtaceae. Muitas espécies são usadas na medicina popular, como por exemplo, *Eugenia uniflora*, utilizada como tônico estimulante, sedativo e ansiolítico. No entanto, não existem estudos sobre o potencial antidepressivo de plantas deste gênero. Este trabalho investigou o efeito tipo-antidepressivo do extrato hidroalcoólico de *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. umbelliflora* e *E. uniflora* no teste de suspensão pela cauda (TSC). Camundongos foram administrados com os extratos por via oral (p.o.), e após 60 minutos submetidos ao TSC. Nesse teste, o tempo de imobilidade foi registrado por um período total de 6 minutos. Uma redução no tempo de imobilidade foi considerada como efeito tipo-antidepressivo. Para descartar um possível efeito dos extratos na atividade locomotora, os camundongos foram avaliados no teste do campo aberto (TCA). A administração aguda dos extratos de *E. beaurepaireana* (10 e 100 mg/kg), *E. brasiliensis* e *E. catharinae* (1, 10 e 100 mg/kg) produziu efeito tipo-antidepressivo, demonstrando uma significativa redução do tempo de imobilidade no TSC quando comparados ao grupo controle, sem apresentar alterações no parâmetros de locomoção no TCA. O pré-tratamento com cetanserina (5 mg/kg, i.p., antagonista de receptores  $5\text{ HT}_{2A/2C}$ ), prazosina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos), ioimbina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos), haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., antagonista não seletivo de receptores dopaminérgicos), SCH23390 (0,05 mg/kg, s.c., antagonista de receptores dopaminérgicos  $D_1$ ) ou sulpirida (50 mg/kg, i.p., antagonista de receptores dopaminérgicos  $D_2$ ), preveniram a redução do tempo de imobilidade dos camundongos tratados com uma dose ativa de *E. brasiliensis* (1 mg/kg). O tratamento com WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c., antagonista seletivo de receptores  $5\text{-HT}_{1A}$ ), fenilefrina (5 mg/kg, s.c., agonista de  $\alpha_1$ -adrenoceptores), SKF38393 (0,1 mg/kg, s.c., agonista de receptores dopaminérgicos  $D_1$ ) ou apomorfina (0,5  $\mu\text{g/kg}$ , i.p., agonista de receptores dopaminérgicos  $D_2$ ) em conjunto com uma dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg) foi efetivo em reduzir o tempo de imobilidade dos camundongos no TSC. A co-administração em doses sub-efetivas do extrato de *E. brasiliensis* com os antidepressivos fluoxetina (5 mg/kg), imipramina (1 mg/kg) e bupropiona (0,1 mg/kg) apresentou efeito tipo-antidepressivo no TST. Os resultados indicam que os extratos hidroalcoólicos de *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis* e *E. catharinae* possuem efeito tipo-antidepressivo, demonstrando pela primeira vez que espécies do gênero

*Eugenia* possuem potencial tipo-antidepressivo no TSC. O efeito tipo-antidepressivo da espécie *E. brasiliensis* parece ser mediado pelos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico.

**Palavras-chave:** depressão, *Eugenia*, *Eugenia brasiliensis*, teste de suspensão pela cauda.

## ABSTRACT

*Eugenia* is a genus of flowering plants belonging to the family Myrtaceae. Many species are used in folk medicine, for example, *Eugenia uniflora* is used as a tonic stimulant, sedative and anxiolytic. However, there are no studies about the antidepressant effect of plants of this genus. This study investigated the antidepressant-like effect of the hydroalcoholic extract of *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. umbelliflora* and *E. uniflora* in the tail suspension test (TST). Mice were administered with the extracts orally (p.o.), and after 60 minutes were submitted to TSC. In this test, the immobility time was recorded by a total of 6 minutes. A reduction in immobility time was considered as antidepressant-like effect. To rule out a possible effect of extracts on locomotor activity, mice were evaluated in open-field test. Acute administration of extracts of *E. beaurepaireana* (10 and 100 mg/kg), *E. brasiliensis* and *E. catharinae* (1, 10 and 100 mg/kg) produced antidepressant-like effect, showing a significant reduction in immobility time when compared to the control group, without causing changes in locomotion in the open-field test. The pre-treatment of mice with ketanserin (5 mg/kg, i.p., a preferential 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonist), prazosin (1 mg/kg, i.p., an  $\alpha_1$ -adrenoceptor antagonist), yohimbine (1 mg/kg, i.p., an  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonist), haloperidol (0.2 mg/kg, i.p., a nonselective dopaminergic receptor antagonist), SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c., a dopamine D<sub>1</sub> receptor antagonist) or sulpiride (50 mg/kg, i.p., a dopamine D<sub>2</sub> receptor antagonist), prevented the reduction of immobility time of mice treated with an active dose of *E. brasiliensis* (1 mg/kg). The treatment with WAY100635 (0.1 mg/kg, s.c., a selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist), phenylephrine (5 mg/kg, s.c. an  $\alpha_1$ -adrenoceptor agonist), SKF38393 (0.1 mg/kg, s.c. a dopamine D<sub>1</sub> receptor agonist) or apomorphine (0.5  $\mu$ g/kg, i.p. a dopamine D<sub>2</sub> receptor agonist) with a sub-active dose of *E. brasiliensis* (0.1 mg/kg) was effective in reducing the immobility time of mice in the TST. The combined administration of sub-effective doses of *E. brasiliensis* with fluoxetine (5 mg/kg), imipramine (0.1 mg/kg) and bupropion (1 mg/kg) decreased the immobility time in the TST. The results indicate that hydroalcoholic extracts of *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis* and *E. catharinae* have antidepressant-like effect, demonstrating for the first time that species of *Eugenia* have antidepressant-like effect in TST. The antidepressant-like effect of *E. brasiliensis* is likely mediated by serotonergic, noradrenergic and dopaminergic systems.

**Keywords:** depression, *Eugenia*, *Eugenia brasiliensis*, tail suspension test.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Efeito do tratamento com <i>E. beaurepaireana</i> , <i>E. brasiliensis</i> , <i>E. catharinae</i> , <i>E. umbelliflora</i> e <i>E. uniflora</i> , ou veículo no TSC em camundongos .....	40
<b>Figura 2.</b> Efeito do tratamento com <i>E. beaurepaireana</i> , <i>E. brasiliensis</i> , <i>E. catharinae</i> , <i>E. umbelliflora</i> e <i>E. uniflora</i> , ou veículo no TCA em camundongos .....	41
<b>Figura 3.</b> Cruva tempo-resposta de <i>E. brasiliensis</i> (1 mg/kg, p.o.) ou veículo no TSC (A) e TCA (B) em camundongos <b>Erro! Indicador não definido.</b>	42
<b>Figura 4.</b> Efeito do tratamento com WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c.) na ação tipo-antidepressiva de <i>E. brasiliensis</i> (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e sobre a locomoção no TCA (B) .....	43
<b>Figura 5.</b> Efeito do pré-tratamento com cetanserina (5 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de <i>E. brasiliensis</i> (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) .....	44
<b>Figura 6.</b> Efeito do pré-tratamento com prazosina (1 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de <i>E. brasiliensis</i> (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) .....	44
<b>Figura 7.</b> Efeito do pré-tratamento com ioimbina (1 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de <i>E. brasiliensis</i> (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) .....	45
<b>Figura 8.</b> Efeito do tratamento com fenilefrina (5 mg/kg, s.c.) em potencializar a ação tipo-antidepressiva de <i>E. brasiliensis</i> (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B) .....	46
<b>Figura 9.</b> Efeito do tratamento com clonidina (0,06 mg/kg, i.p.) na ação tipo-antidepressiva de <i>E. brasiliensis</i> (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B) .....	46
<b>Figura 10.</b> Efeito do pré-tratamento com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de <i>E. brasiliensis</i> (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) .....	47

**Figura 11.** Efeito do pré-tratamento com SCH23390 (0,05 mg/kg, s.c.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) ..... 48

**Figura 12.** Efeito do pré-tratamento com sulpirida (50 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) ..... 48

**Figura 13.** Efeito do tratamento com SKF38393 (0,1 mg/kg, i.p.) em potencializar a ação tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B) ..... 49

**Figura 14.** Efeito do tratamento com apomorfina (0,5 µg/kg, i.p.) em potencializar a ação tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B) ..... 50

**Figura 15.** Efeito da administração de doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) e de fluoxetina (5 mg/kg, p.o.) na redução do tempo de imobilidade no TSC (A), e sobre a locomoção no TCA (B) ..... 50

**Figura 16.** Efeito da administração de doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) e de imipramina (0,1 mg/kg, p.o.) na redução do tempo de imobilidade no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) ..... 51

**Figura 17.** Efeito da administração de doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) e de bupropiona (1 mg/kg, p.o.) na redução do tempo de imobilidade no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B) ..... 52

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Critérios diagnósticos da depressão de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM-IV) .....	22
--	----





## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\alpha_1$  e  $\alpha_2$  = subtipos de receptores noradrenérgicos

ANOVA = análise de variância

CEUA = Comissão de Ética no Uso de Animais

D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> = subtipos de receptores dopaminérgicos

EPM = erro padrão da média

5-HT<sub>1A/1B/2A/2C</sub> = subtipos de receptores serotoninérgicos

i.p. = intraperitoneal

ISRN = inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina

ISRS = inibidor seletivo da recaptação de serotonina

MAO = enzima monoamina oxidase

MAO-A = enzima monoamina oxidase A

p.o. = *per oral* (via oral)

TCA = teste do campo aberto

TNF = teste do nado forçado

TSC = teste da suspensão pela cauda

v:v = volume:volume



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	21
1.1 DEPRESSÃO .....	21
1.2 PLANTAS E MEDICAMENTOS .....	25
1.3 FAMÍLIA MYRTACEAE .....	26
1.4 GÊNERO <i>EUGENIA</i> .....	27
1.4.1 Usos populares de plantas do gênero <i>Eugenia</i> .....	27
1.4.2 <i>Eugenia beaurepaireana</i> .....	28
1.4.3 <i>Eugenia brasiliensis</i> .....	28
1.4.4 <i>Eugenia catharinae</i> .....	28
1.4.5 <i>Eugenia umbelliflora</i> .....	29
1.4.6 <i>Eugenia uniflora</i> .....	29
1.5 MODELOS ANIMAIS DE DEPRESSÃO .....	30
2 JUSTIFICATIVA .....	31
3 OBJETIVOS .....	33
3.1 OBJETIVO GERAL .....	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	35
4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>EUGENIA</i> .....	35
4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE PLANTAS DO GÊNERO <i>EUGENIA</i> .....	35
4.3 ANIMAIS E TRATAMENTO .....	35
4.4 TESTES COMPORTAMENTAIS .....	36
4.4.1 Teste da suspensão pela caudas .....	36
4.4.2 Avaliação da atividade locomotora .....	36
4.5 ANÁLISE DO ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS MONOAMINÉRGICOS NO EFEITO TIPO-ANTIDEPRESSIVO DE <i>E.</i> <i>brasiliensis</i> .....	37
4.5.1 Envolvimento do sistema serotoninérgico .....	37
4.5.2 Envolvimento do sistema noradrenérgico .....	37
4.5.3 Envolvimento do sistema dopaminérgico .....	38
4.5.4 Investigação do efeito do extrato de <i>E. brasiliensis</i> com antidepressivos no TSC .....	38
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	38
5 RESULTADOS .....	39
5.1 ATIVIDADE TIPO-ANTIDEPRESSIVA DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>EUGENIA</i> .....	39
5.2 CURVA TEMPO-RESPOSTA – <i>Eugenia brasiliensis</i> .....	42
5.3 ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS MONOAMINÉRGICOS NO EFEITO TIPO-ANTIDEPRESSIVO DE <i>E. brasiliensis</i> .....	42
5.3.1 Envolvimento do sistema serotoninérgico .....	42
5.3.2 Envolvimento do sistema noradrenérgico .....	44
5.3.3 Envolvimento do sistema dopaminérgico .....	47

5.4 EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE <i>E. brasiliensis</i> COM ANTIDEPRESSIVOS NO TSC .....	50
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>PERSPECTIVAS .....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>67</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 DEPRESSÃO

A depressão é um transtorno psiquiátrico prevalente, com estimativa de atingir cerca de 21% da população mundial (Schechter et al., 2005), sendo reconhecida como um problema de saúde pública (Nestler e Carlezon, 2006). A Organização Mundial da Saúde prevê que este transtorno psiquiátrico será a segunda maior causa de incapacitação em 2020, e a principal doença responsável pela perda de anos de vida por morte prematura, ou anos vividos sem plena saúde em 2030, tornando-se, conseqüentemente, uma das doenças que mais gerará custos econômicos e sociais aos governos, uma vez que os acometidos pela doença apresentam limitação da sua atividade e bem-estar, o que provoca incapacidade e perda de produtividade (Ebmeier et al., 2006), além de uma maior utilização de serviços de saúde (Fleck et al., 2003; Nemeroff, 2007).

A depressão é caracterizada na maioria das vezes por anedonia (perda de interesse ou prazer nas atividades diárias normais) e humor deprimido. Outros sintomas podem incluir perturbações do sono, ganho ou perda de peso, aumento ou diminuição do apetite, sentimentos recorrentes inapropriados de culpa, agitação psicomotora, diminuição da capacidade de pensar, de concentração e de tomar decisões e pensamentos de morte ou suicídio. De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV) (American Psychiatry Association, 2000), o diagnóstico exige que no mínimo cinco dos nove principais sintomas, dentre eles anedonia e/ou humor deprimido, sejam presentes durante um período de pelo menos 2 semanas (**Tabela 1**).

**Tabela 1. Critérios diagnósticos da depressão de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM-IV).**

---

<b>1. Humor deprimido</b>
<b>2. Anedonia</b>
<b>3. Falta de esperança, desespero, sentimento de culpa ou desvalia</b>
<b>4. Perda de peso e apetite/ ganho de peso ou apetite</b>
<b>5. Agitação psicomotora/ letargia</b>
<b>6. Fadiga ou falta de energia</b>
<b>7. Pensamentos recorrentes de morte ou suicídio</b>
<b>8. Dificuldade de concentração</b>
<b>9. Insônia/hipersônia</b>

---

Fonte: Manual Diagnóstico e Estatístico dos Distúrbios Mentais (American Psychiatric Association, 1994).

Em muitos casos, a depressão não tem uma causa identificável. Entretanto, existem fatores associados ao episódio depressivo. Entre estes estão: genéticos (hereditários), ambientais, alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas (File, 1996; Nestler *et al.*, 2002; Berton e Nestler 2006). A depressão também é descrita como uma doença relacionada com o estresse, podendo este causar alterações neuroquímicas e morfológicas que contribuem para o risco de depressão (Nestler *et al.*, 2002). Segundo estudos epidemiológicos, o estresse crônico parece ser um dos principais fatores ambientais que predis põem um indivíduo à depressão (Nestler *et al.*, 2002). Em cerca de 60% dos casos, os episódios depressivos são precedidos pela ocorrência de fatores estressantes, principalmente de origem psicossocial (Post, 1992). O estresse crônico é um fator ambiental que pode levar ao aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticóides, desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e a consequente morte de neurônios hipocampais (Nestler *et al.*, 2002), sendo estes neurônios amplamente relacionados às funções cognitivas (Sapolsky, 2000). Nesta condição há um prejuízo dos mecanismos de neuroplasticidade, incluindo redução da neurogênese, os quais são revertidos após o tratamento com antidepressivos (Nestler *et al.*, 2002; Pittenger e Duman, 2008). Além disso, a depressão pode apresentar co-morbidades com outras doenças clínicas, tais como doenças cardiovasculares, doenças neurológicas e câncer (Nestler *et al.*, 2002).

A literatura sugere que os sintomas da depressão estão relacionados com uma redução na plasticidade sináptica cerebral (Duman et al., 2000; Duman 2004, 2005 Duman e Monteggia, 2006). Esta menor plasticidade dos circuitos neuronais em indivíduos padecendo de depressão está também associada a modificações morfológicas no córtex límbico, sobretudo uma diminuição da arborização dendrítica e do número de contatos sinápticos (Magariños e MsEwen, 1995; Magariños et al., 1997). Paralelamente ocorre também uma atrofia em particular do hipocampo (Sheline et al., 1996), com prejuízos dos mecanismos de neuroplasticidade, incluindo redução da neurogênese e aumento da expressão de proteínas pró-apoptóticas (como caspases 3 e 9), redução das proteínas anti-apoptóticas (Bcl2) e redução dos níveis do fator neurotrófico derivado do encéfalo (Nestler et al., 2002). De fato, a exposição dos animais a agentes estressores é capaz de induzir uma série de alterações fisiológicas e comportamentais que mimetizam o estado depressivo, podendo ser revertidas pelo tratamento com antidepressivos (D'Aquila et al., 1994; Willner et al., 1992; Willner, 1997, Gutiérrez-García e Contreras, 2008).

Apesar da etiologia da depressão ainda não ser bem esclarecida, sabe-se que a doença resulta, em parte, de uma deficiência na atividade monoaminérgica no cérebro (Elhwuegi, 2004). A hipótese monoaminérgica da depressão surgiu em 1965 e postula que esta doença pode ser consequência de uma redução dos níveis de monoaminas na fenda sináptica e que o tratamento da depressão envolve o aumento da atividade monoaminérgica no cérebro (Schildkraut, 1965; Elhwuegi, 2004). Esta hipótese é sustentada principalmente pelo fato de a maioria dos antidepressivos utilizados na clínica aumentarem os níveis de monoaminas no cérebro (Nemeroff, 2007). Estudos neurobiológicos e neuroanatômicos também estão de acordo com a hipótese monoaminérgica e indicam que importantes alterações nos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico estão relacionadas com o sucesso do tratamento antidepressivo (Cummings, 1993; Elhwuegi, 2004).

O envolvimento do sistema serotoninérgico na etiologia da depressão é amplamente reconhecido na literatura e drogas que agem sobre este sistema têm sido largamente utilizadas no tratamento dos distúrbios depressivos (Risch e Nemeroff, 1992; Wong et al., 2005). Estudos relacionam os receptores serotoninérgicos, especialmente dos subtipos 5-HT<sub>1A/1B</sub>, e 5-HT<sub>2A/2C</sub>, com a ação central de antidepressivos (Redrobe e Bourin, 1997; Hensler, 2002; Taylor et al., 2005a).

O papel do sistema noradrenérgico na depressão também têm sido relatado na literatura (Wong e Licinio, 2001; Taylor et al., 2005a).

Diversas evidências demonstram a participação de  $\alpha$ -adrenoceptores e  $\beta$ -adrenoceptores na ação de fármacos antidepressivos. Sendo que o bloqueio de  $\alpha_1$ -adrenoceptores está associado a estados depressivos, enquanto que o tratamento crônico com antidepressivos causa um aumento na densidade e na atividade de  $\alpha_1$ -adrenoceptores no córtex frontal e no hipocampo. O tratamento crônico com antidepressivos também causa uma “down-regulation” dos auto-receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos e dos  $\beta_1$ -adrenoceptores (Millan, 2004).

Adicionalmente, alguns estudos têm postulado que a função dopaminérgica reduzida também está implicada na fisiopatologia da depressão (D'Aquila et al., 2000; Dailly et al., 2004). No estriado de pacientes com depressão maior foi observada uma “up-regulation” dos transportadores dopaminérgicos (Laasonen-Balk et al., 1999), o que pode ser o fator primário que determina uma menor disponibilidade de dopamina na fenda sináptica (Dailly et al., 2004). Cabe ressaltar que o tratamento com antidepressivos aumenta a transmissão dopaminérgica preferencialmente no sistema mesolímbico, induzindo uma melhora nos sintomas da depressão, tal como a anedonia (D'Aquila et al., 2000; Dailly et al., 2004). Mostrando que o efeito de antidepressivos sobre a transmissão dopaminérgica parece ser um importante fator que contribui para a eficácia da terapia antidepressiva.

Existem várias classes de antidepressivos usados para o tratamento da depressão. Estes fármacos podem agir inibindo a enzima monoamina oxidase (MAO), ou atuando sobre os sistemas de recaptação das monoaminas em conjunto, como é o caso dos antidepressivos tricíclicos. Podem ainda atuar como inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) ou da recaptação de noradrenalina (ISRN), aumentando a concentração destes neurotransmissores na fenda sináptica (Nemeroff e Owens, 2002; Nemeroff, 2007). No entanto, estes fármacos proporcionam uma remissão completa para apenas cerca de 50% dos indivíduos, além de causarem efeitos colaterais, o que muitas vezes contribui para diminuir a adesão dos pacientes ao tratamento (Brunello et al., 2002). Além disto, a resposta terapêutica destes fármacos só ocorre 3-5 semanas após o início do tratamento. Desta forma, existe uma grande necessidade do desenvolvimento de terapias antidepressivas alternativas ou de substâncias que possam aumentar a eficácia clínica no tratamento da depressão.

De fato, o melhor entendimento das vias e mecanismos responsáveis pela ação dos antidepressivos pode contribuir substancialmente para uma melhor compreensão dos transtornos



depressivos e para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o seu tratamento (Wong e Licinio, 2001).

## 1.2 PLANTAS E MEDICAMENTOS

De 520 novos fármacos aprovados entre 1983 e 1994, 78% dos medicamentos recomendados para o tratamento de doenças infecciosas e 61 % dos antineoplásicos eram provenientes de produtos naturais e seus derivados (Viegas *et al.*, 2006). E ainda, dos 20 medicamentos mais vendidos mundialmente em 1999, 9 deles eram derivados ou foram desenvolvidos com base em pesquisas sobre produtos naturais (Harvey, 2000).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, devido a dificuldades econômicas e falta de acesso a medicamentos, cerca de 65-80% da população mundial que vive em países em desenvolvimento depende, essencialmente, das plantas para seus cuidados primários de saúde (Akerele, 1993).

Assim, é inegável que a maioria da população de baixa renda recorra às plantas medicinais para o tratamento dos seus males. Nesse contexto, as plantas medicinais e em especial o uso dos medicamentos fitoterápicos adquirem importância como agentes terapêuticos e, por isso, devem ser prioritariamente analisados segundo os métodos modernos disponíveis (Lapa *et al.*, 1999; Calixto, 1998, 2000). Estudos mostram que o uso de terapias alternativas é muito procurado por pacientes com depressão, especialmente o uso de medicamentos fitoterápicos (Kessler et al., 2001; Tachil et al., 2007). No entanto, o uso clínico de medicamentos com ação antidepressiva obtidos de plantas ainda é bastante limitado. Estudos adicionais neste sentido são importantes, visto que a maioria dos antidepressivos existentes no mercado, principalmente os de menor custo como os antidepressivos tricíclicos, produzem efeitos colaterais importantes que levam, frequentemente, à diminuição da adesão dos pacientes ao tratamento (MacGillivray *et al.*, 2003). Como o interesse em terapias naturais é muito grande por parte da população, a adesão ao tratamento costuma ser maior no caso do uso de fitofármacos (Calixto, 2000).

Desta forma, considerando-se o exposto e a necessidade de otimização de farmacoterapia convencional para a depressão, nosso grupo de pesquisa tem se dedicado a investigar a possível ação antidepressiva de plantas de ocorrência local no Estado de Santa Catarina (Machado *et al.*, 2007, 2009, Freitas et al., 2010, Bettio et al. 2011).

### 1.3 FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae compreende cerca de 100 gêneros, com aproximadamente 3000 espécies, sendo que no Brasil existem aproximadamente 1000 espécies (Schutz, 1980).

Esta família é constituída de plantas que possuem folhas simples, opostas, providas de glândulas aromáticas. As flores são regulares, hermafroditas, solitárias ou agregadas em inflorescências. O cálice é constituído geralmente por 4 ou 5 lóbulos livres, às vezes, soldados formando um opérculo que se desprende ao abrir a flor. A corola é constituída por 4 a 5 pétalas livres, pequenas e as vezes soldadas. Possuem estames numerosos e seus frutos geralmente sob forma de baga ou cápsula contém 2 ou mais sementes (Auricchio e Bacchi, 2003).

Esta família é subdividida em duas subfamílias: Myrtoideae e Leptospermoideae, as quais ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais da Austrália, Ásia e América, embora presentes em todo mundo. No Brasil, todas as espécies de ocorrência natural pertencem à subfamília Myrtoideae, a qual é caracterizada por seus frutos carnosos e disposição oposta de suas folhas. Mais de 2 centenas das espécies brasileiras apresentam frutos edúlos e/ou medicinais e condimentares (Jorge et al., 1996; Watanabe et al., 2004).

O uso medicinal de espécies desta família tem sido comprovado, como a atividade antimicrobiana de óleos essenciais e atividades antiviral, hipoglicemiante, antioxidante e anticancerígena (Silva et al., 2000; Apel et al., 1998). Na medicina popular, o decocto das folhas de espécies da família Myrtaceae tem sido utilizado para as mais variadas finalidades medicinais, como antirreumático, antidiabético, antipirético, hipoglicemiante, diurético e regulador do aparelho digestivo (Brito et al., 1998; Bnouhom et al., 2006).

Em relação à constituição química, pode-se citar para esta família taninos, flavonóides, óleos essenciais, ácidos como elágico e ursólico e, em algumas espécies, saponinas (Watanabe et al., 2004). Várias espécies apresentam a presença dos triterpenos  $\beta$ -amirina e eucaliptina (Gottlieb et al., 1972). Outra classe encontrada são os sesquiterpenos, os quais apresentam amplo espectro de atividades biológicas como: atividades antineoplásica, antimalárica, antiviral e microbicida. Estudos demonstram a atividade anti-inflamatória de óleos essenciais das folhas de diversas espécies como *Eugenia florida* e *Eugenia brasiliensis* (Souza et al., 1998). Ainda pode ser citada a ocorrência de flavonas e metóxi-flavonas. Numa visão geral quimiossistemática de 89 gêneros da família foi identificado em

aproximadamente 44% deles a presença de polihidroxiálcalóides, os quais tem sido utilizados como marcadores taxonômicos para esta família (Porter et al., 1999)

#### 1.4 GÊNERO *EUGENIA*

O gênero *Eugenia* compreende cerca de 400 espécies (Fontenelle et al., 1994), sendo um dos maiores da família Myrtaceae (Fischer et al., 2005). Distribui-se desde o Brasil até o Norte e Nordeste da Argentina, Uruguai e Paraguai (Consolini, et al., 1999). Segundo Auricchio e Bacchi (2003) as plantas do gênero *Eugenia* consistem em árvores ou arbustos verdes durante o ano todo, com flores tetrâmeras ou pentâmeras, solitárias ou em racemos, com sépalas bem diferenciadas no botão floral freqüentemente reduzidos a glomérulos ou fascículos, cálices aberto ou fechado, rompendo-se irregularmente, bractéolas persistentes ou decíduas, ovário bilocular com uma ou duas sementes, geralmente membranáceas e embrião com cotilédones unidos. O fruto é do tipo baga de até 3 centímetro de diâmetro, esférico e achatado nas extremidades, em gomos mais ou menos salientes, coroados pelo cálice.

Muitas espécies do gênero *Eugenia* são apreciadas por seus frutos, que são usados como alimento (Fischer et al., 2005), a exemplo de *Eugenia uniflora*, uma das espécies mais conhecidas do gênero, chamada popularmente de “pitangueira” (Consolini et al., 1999).

##### 1.4.1 Usos populares de plantas do gênero *Eugenia*

As plantas do gênero *Eugenia* têm ampla utilização na medicina popular, sendo utilizadas como recurso terapêutico para o tratamento de diversas enfermidades. A espécie *Eugenia uniflora*, conhecida como pitangueira, era usada pelos índios guaranis como tônico estimulante (Alonso, 1998). O chá das folhas é utilizado na medicina popular como calmante, para nervosismo, ansiedade e irritação infantil (Korbes, 1995; Franco, 2004). É também citada pela medicina popular como anti-hipertensiva, diurética e tem sido usada para desordens gástricas (Consolini et al., 1999); também como eupéptica, carminativa e digestiva (Lee et al., 1997). Seu uso em infecções também foi relatado (Coelho de Souza et al., 2004). Os frutos de *Eugenia jambolana*, conhecida popularmente como “jambolão”, são usados como adstringentes (Revilla, 2002), estomáquicos, diuréticos e antidiabéticos (Timbola et al., 2002). *Eugenia edulis* tem o nome popular de “jaboticaba”, “jabuticaba”, “jaboticabeira”, é usada na medicina

tradicional em inflamações e infecções (Hussein *et al.*, 2003), bronquites, coqueluche e tosse em geral (Revilla, 2002).

#### 1.4.2 *Eugenia beaurepaireana*

*Eugenia beaurepaireana* Legrand, é conhecida como ingabaú e guamirim-ferro. É uma árvore com tronco geralmente reto e cilíndrico, apresentando uma altura média de 10-15 metros e diâmetro de 20-30 cm; sua casca é tipicamente de cor cinza-claro. Possui ocorrência desde a Serra dos Órgãos, no Rio de Janeiro, até a Mata Atlântica de Santa Catarina. Em Santa Catarina possui distribuição uniforme, através de toda a Mata Atlântica, desde o extremo norte ao extremo sul, do Vale do Itajaí até o município de Rio do Sul (Reitz e Klein, 1969). Esta espécie ainda carece de estudos, uma vez que poucos trabalhos são encontrados na literatura. Os compostos majoritários presentes no óleo essencial desta espécie são biciclogermacreno (14,3%),  $\Delta$ -cadineno (7,2%), T-cadinol (6,5%),  $\alpha$ -cadinol (6,1%) e  $\beta$ -cariofileno (6,4%) (Apel *et al.*, 2004b).

#### 1.4.3 *Eugenia brasiliensis*

A espécie *Eugenia brasiliensis* Lamarck, é conhecida popularmente como grumixama, grumixameira, grumixaba ou itapoiroti. Ocorre desde os estados do Nordeste até a Mata Atlântica de Santa Catarina. Distribui-se na mata pluvial atlântica do Sul do Brasil, tendo como limite sul a Serra do Tabuleiro. Devido aos seus frutos, que são comestíveis, esta árvore é frequentemente cultivada.

Na medicina popular, o uso da espécie, na forma de infusão das folhas, foi relatado para o tratamento de artrite, reumatismo e como diurética. Os frutos maduros são usados como alimento e para a preparação de bebidas fermentadas (Revilla, 2002). Existem poucos relatos sobre compostos químicos e atividades farmacológicas na literatura. Os compostos majoritários encontrados no óleo essencial desta espécie são  $\alpha$ -selineno e  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -cariofileno e  $\beta$ -pineno (Fischer *et al.*, 2005).

#### 1.4.4 *Eugenia catharinae*

Conhecida popularmente como Guamirim ou Guamirim-mole, é uma espécie arbórea, de distribuição restrita ao litoral de Santa Catarina, podendo ser encontrada em vegetação tipo restinga, geralmente presente

entre dunas. Nas restingas catarinenses, predominam as mirtáceas, destacando-se com porte arbustivo os gêneros *Myrcia*, com o exemplar muito frequente, o cambuí (*Myrcia multiflora*) e *Eugenia*, com o exemplar guamirim (*Eugenia catharinae*).

Esta espécie ainda carece de estudos, tanto sobre sua utilização popular, como suas propriedades químicas.

#### **1.4.5 *Eugenia umbelliflora***

*Eugenia umbelliflora* Berg., tem como nome popular baguaçu, guapê e guamirim, dado à árvore e seus frutos, que crescem nas matas do sudeste do Brasil. É uma arvoreta de tronco um pouco tortuoso, com 3-10 metros de altura, de casca quase lisa e clara, raramente densa, formando copa arredondada e espessa. Existem poucas referências na literatura a respeito desta planta. Dos frutos desta espécie foi relatada a presença de antocianinas (Kuskoski et al., 2003). O óleo essencial também foi estudado, mostrando um alto teor de  $\alpha$ -pineno (24,7%) e  $\beta$ -pineno (23,5%) (Apel et al., 2002). Possui atividade antibacteriana descrita, onde extratos metanólicos das folhas e frutos da espécie demonstraram atividade contra microorganismos gram-positivos, como *Staphylococcus aureus* (Machado et al., 2005).

#### **1.4.6 *Eugenia uniflora***

Esta espécie é nativa do Brasil, encontrada principalmente nos estados de Goiás, Bahia, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. É conhecida popularmente como pitangueira, seu fruto é comestível *in natura*, sendo também consumido na forma de sucos, doces, licor e vinho. Possui propriedades tônico estimulantes relacionadas a presença de flavonóides, por efeito inibitório da enzima xantino oxidase, potencializadas quando associadas a chá, café e erva-mate (Alonso, 1998). O chá das folhas é tradicionalmente usado para nervosismo, ansiedade e irritação infantil (Korbes, 1995; Franco, 2004).

A infusão ou decocto das folhas é utilizado na medicina popular como anti-reumático, antifebrífugo, antidiarreico, diurético, hipoglicemiante, hipocolesteromiante, anti-hipertensivo e auxiliar na perda de peso (Wazlawik et al., 1996; Auricchio e Bacchi, 2003; Souza et al., 2004).

Estudos com os infusos e decoctos das folhas desta espécie, seguindo o modo de preparo preconizado pela população, relataram

efeito anti-inflamatório e analgésico com a infusão preparada a partir de folhas frescas. O efeito anti-hipertensivo foi confirmado com a administração intraperitoneal do extrato aquoso bruto em ratos normotensos (Consolini *et al.*, 1999). Os decoctos se revelaram mais ativos em relação à diminuição do trânsito intestinal, provavelmente, por extraírem os taninos mais eficazmente (Auricchio e Bacchi, 2003). A fração acetato de etila do extrato das folhas revelou ação contrátil sobre o duodeno isolado de rato, possivelmente relacionados a ações anticolinérgicas (Gbolade *et al.*, 1996).

Quanto à constituição química, foi isolado na fração acetato de etila das folhas os flavonóides miricetina e quercetina, além de ácido gálico. Em relação à fração aquosa, foi possível caracterizar taninos hidrolizáveis (elagitaninos) (Wazllawik *et al.*, 1996). No óleo essencial foi identificado citronelol, geraniol, cineol e vários sesquiterpenos (Moreira *et al.*, 1996).

## 1.5 MODELOS ANIMAIS DE DEPRESSÃO

Modelos animais de depressão são ferramentas indispensáveis na pesquisa que visa identificar novos compostos com possível ação antidepressiva e para fornecer novos conhecimentos sobre as bases neurobiológicas desta desordem psiquiátrica (Cryan *et al.*, 2002). No entanto, muitos dos sintomas característicos da depressão como humor deprimido e sentimentos de culpa não podem ser avaliados em laboratório. Além disso, a falta de conhecimento de genes envolvidos na fisiopatologia da doença torna difícil a reprodutibilidade das causas genéticas na pesquisa pré-clínica (Nestler *et al.*, 2002). Dessa forma, os modelos animais de depressão disponíveis baseiam-se em dois princípios: resposta a antidepressivos conhecidos e resposta ao estresse (Nestler *et al.*, 2002).

Modelos com validade preditiva, como o teste do nado forçado (TNF) e o teste de suspensão pela cauda (TSC) são amplamente utilizados para o estudo da depressão (Nestler *et al.*, 2002; McArthur e Borsini, 2006). O TNF foi descrito primeiramente por Porsolt *et al.* (1977), sendo utilizado em ratos e posteriormente em camundongos, enquanto o TSC foi descrito em camundongos por Steru *et al.* (1985). Estes dois modelos são amplamente utilizados na busca por compostos com possível ação antidepressiva (Bourin *et al.*, 2005); são de fácil uso e de boa reprodutibilidade (Cryan *et al.*, 2002).

## 2 JUSTIFICATIVA

A depressão é uma das doenças neuropsiquiátricas mais prevalentes, que causa uma considerável morbidade psiquiátrica e perda de produtividade (Ebmeier *et al.*, 2006), além de ser o principal fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças arteriais coronarianas e isquemia cerebral, e de estar associada com risco de suicídio (Nemeroff e Owens, 2002). Adicionalmente, os fármacos utilizados para o tratamento da depressão apresentam baixa eficácia clínica (Nestler *et al.*, 2002) e causam diversos efeitos colaterais, o que muitas vezes contribui para o abandono do tratamento pelo paciente (Brunello *et al.*, 2002).

O uso de terapias alternativas é muito procurado por pacientes com depressão, especialmente o uso de medicamentos fitoterápicos (Kessler *et al.*, 2001; Tachil *et al.*, 2007). Assim, o desenvolvimento de agentes de seguros e eficazes a partir de plantas podem fornecer uma boa maneira de diminuir os efeitos colaterais, bem como melhorar a eficácia do tratamento convencional (Wang *et al.*, 2008).

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Neste contexto é importante mencionar que as plantas, além de seu uso na medicina popular com finalidades terapêuticas, têm contribuído, ao longo dos anos para a obtenção de vários fármacos, até hoje amplamente utilizados na clínica (Farnsworth, 1980; Teske *et al.*, 1995).

Considerando o exposto, a importância deste estudo se justifica tendo em vista a elevada incidência de depressão, a necessidade de melhor compreensão dos mecanismos moleculares e da fisiopatologia da doença e a necessidade de desenvolvimento de terapias antidepressivas alternativas ou de substâncias que possam otimizar a eficácia clínica para o tratamento da depressão, uma vez que as plantas do gênero *Eugenia*, apesar de utilizadas pela medicina popular, não possuem estudos sobre o potencial antidepressivo relatados na literatura.





### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar a ação tipo-antidepressiva de extratos hidroalcoólicos obtidos das diferentes espécies do gênero *Eugenia* (*Eugenia umbeliflora*, *Eugenia catharinae*, *Eugenia brasiliensis*, *Eugenia beaurepaireana* e *Eugenia uniflora*) no TSC e verificar através de estudos “*in vivo*” os sistemas de neurotransmissores modulados pelo extrato de *E. brasiliensis*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o efeito tipo-antidepressivo de extratos hidroalcoólicos de plantas do gênero *Eugenia* (*Eugenia umbeliflora*, *Eugenia catharinae*, *Eugenia brasiliensis*, *Eugenia beaurepaireana* e *Eugenia uniflora*) no TSC em camundongos.

- Investigar o efeito de extratos hidroalcoólicos de plantas do gênero *Eugenia* (*Eugenia umbeliflora*, *Eugenia catharinae*, *Eugenia brasiliensis*, *Eugenia beaurepaireana* e *Eugenia uniflora*) sobre a atividade locomotora de camundongos.

- Verificar através de estudos “*in vivo*” possíveis sistemas de neurotransmissores que podem estar envolvidos no efeito tipo-antidepressivo do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*.

- Investigar o efeito da administração de doses sub-ativas do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* em conjunto com doses sub-ativas de antidepressivos convencionais (fluoxetina, imipramina e bupropiona) sobre o comportamento tipo-depressivo no TSC e locomotor no TCA.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *EUGENIA*

O material vegetal foi coletado nos seguintes locais:

- *Eugenia brasiliensis* e *Eugenia beaurepaireana*: foram coletadas no município de Santo Amaro da Imperatriz.

- *Eugenia umbelliflora* e *Eugenia uniflora*: foram coletadas nas imediações do campus da UFSC, Florianópolis.

- *Eugenia catharinae* foi coletada na praia da Daniela, Florianópolis.

As amostras foram identificadas pelo Prof. Dr. Daniel de Barcellos Falkenberg, Departamento de Botânica, UFSC, possuindo as seguintes exsiccatas: *E. beaurepaireana* (34.674), *E. brasiliensis* (34.675), *E. catharinae* (27.820), *E. umbelliflora* (17.890) e *E. uniflora* (23.152).

### 4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE PLANTAS DO GÊNERO *EUGENIA*

As folhas secas e moídas (100 g) das diferentes espécies de *Eugenia* foram maceradas em etanol 96% durante 7 dias. Após a extração, os extratos foram filtrados e o procedimento foi repetido mais duas vezes. Os extratos resultantes de três macerações foram então reunidos e secos em evaporador rotatório sob pressão reduzida, em banho-maria com temperatura controlada de 60°C durante todo o procedimento, fornecendo assim extratos hidroalcoólicos. O rendimento dos extratos foram: 8,97 %, 10,82 %, 15,45 %, 8,18 % e 19,29 % para *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. umbelliflora* e *E. uniflora*, respectivamente. A preparação dos extratos foi realizada no Laboratório de Fitoquímica da UFSC sob a responsabilidade da Prof. Dr<sup>a</sup>. Inês Maria Brighente.

### 4.3 ANIMAIS E TRATAMENTO

Foram utilizados camundongos Swiss adultos de ambos os sexos (30-40 g), mantidos em condições padrão de laboratório com livre acesso a água e comida, em ciclo claro/escuro 12:12 h. Os animais foram ambientados no local da experimentação 24 horas antes da observação comportamental e distribuídos de forma aleatória nos grupos

experimentais (n = 7-8). Os animais foram tratados com os extratos das plantas sob investigação por via oral (p.o.) e testados após 60 minutos nos testes comportamentais. A fluoxetina (10 mg/kg), antidepressivo convencional (ISRS) foi utilizada como controle positivo. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da UFSC, e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica. Os procedimentos realizados estão aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSC (CEUA), sob protocolo da CEUA N° PP00450.

As drogas dos protocolos experimentais foram diluídas em água destilada (administração oral) ou solução salina (administração i.p. ou i.c.v.). Animais controles receberam os veículos apropriados (água destilada ou salina), sendo que comida e água foram retirados uma hora antes do início dos tratamentos.

#### 4.4. TESTES COMPORTAMENTAIS

##### 4.4.1 Teste da suspensão pela cauda (TSC)

O tempo total de duração da imobilidade foi medida de acordo com o método Steru et al. (1985). Os camundongos, acústica e visualmente isolados, foram suspensos 50 cm acima do chão por fita adesiva e a imobilidade foi registrada durante 6 minutos. Os antidepressivos reduzem o tempo de imobilidade neste teste (Steru et al., 1985).

##### 4.4.2 Avaliação da atividade locomotora (TCA)

A fim de excluir a possibilidade de que um eventual efeito tipo-antidepressivo, ou seja, uma redução da imobilidade no TSC, fosse devido a um aumento na atividade locomotora causado pelos extratos, os camundongos foram submetidos ao teste do campo aberto, como descrito por Rodrigues *et al.* (1996) 60 minutos após a administração dos extratos por via p.o.. O teste foi realizado em uma caixa de madeira medindo 40 x 60 x 50 cm (largura/comprimento/altura), cujo chão é dividido em 12 quadrantes iguais. O número de quadrantes cruzados pelo animal foi registrado durante 6 minutos. A limpeza do aparato foi realizada com álcool 10%, entre os testes.

## 4.5 ANÁLISE DO ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS MONOAMINÉRGICOS NO EFEITO TIPO-ANTIDEPRESSIVO DE *E. BRASILIENSIS*

De acordo com os resultados obtidos com os diferentes extratos, a espécie *E. brasiliensis* foi selecionada para a análise do envolvimento dos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico no seu efeito, uma vez que esta espécie produziu resultados mais significativos nos testes da atividade antidepressiva, apresentando maior significância ( $P < 0,01$ ) na menor dose capaz de produzir efeito (1 mg/kg) em comparação com as outras espécies. A análise do envolvimento dos sistemas monoaminérgicos foi realizada utilizando ferramentas farmacológicas (agonistas e antagonistas específicos).

### 4.5.1 Envolvimento do sistema serotoninérgico

A fim de investigar o envolvimento do sistema serotoninérgico na ação tipo-antidepressiva do extrato selecionado, os camundongos foram tratados com uma dose sub-ativa do extrato de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg) e após 30 minutos foram tratados com uma dose sub-ativa de WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c., antagonista seletivo de receptores 5-HT<sub>1A</sub>). Após 30 minutos os animais foram submetidos ao TSC ou TCA. Em um experimento adicional, os camundongos foram pré-tratados com cetanserina (5 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>) e após 30 minutos foi administrado extrato de *E. brasiliensis* (1 mg/kg). Transcorridos 60 minutos os animais foram submetidos ao TSC ou TCA. (Freitas et al., 2010).

### 4.5.2 Envolvimento do sistema noradrenérgico

Os camundongos foram pré-tratados com prazosina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos) e ioimbina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos) e após 30 minutos o extrato de *E. brasiliensis* (1 mg/kg) foi administrado. Transcorridos 60 minutos os camundongos foram submetidos ao TSC ou TCA (Machado et al., 2009; Freitas et al., 2010).

Em um experimento adicional, a fim de verificar um possível efeito tipo-antidepressivo sinérgico, os camundongos foram tratados com um dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg) e após 30 minutos foram tratados com doses sub-ativas de fenilefrina (5 mg/kg, s.c., agonista de  $\alpha_1$ -adrenoceptores) ou clonidina (0,06 mg/kg; i.p., agonista

de  $\alpha_2$ -adrenoceptores). Após 30 minutos os animais foram submetidos ao TSC ou TCA.

#### 4.5.3 Envolvimento do sistema dopaminérgico

Os camundongos foram pré-tratados com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., antagonista não seletivo de receptores dopaminérgicos), SCH23390 (0,05 mg/kg, s.c., antagonista de receptores dopaminérgicos  $D_1$ ) ou sulpirida (50 mg/kg, i.p., antagonista de receptores dopaminérgicos  $D_2$ ) e após 30 minutos o extrato de *E. brasiliensis* (1 mg/kg). Transcorridos 60 minutos os animais foram submetidos ao TSC ou TCA (Machado et al., 2009; Freitas et al., 2010).

A fim de verificar um possível efeito tipo-antidepressivo sinérgico, os camundongos foram tratados com uma dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg) e após 30 minutos foram tratados com doses sub-ativas de SKF38393 (0,1 mg/kg, s.c., agonista de receptores dopaminérgicos  $D_1$ ) ou apomorfina (0,5  $\mu$ g/kg, i.p., agonista de receptores dopaminérgicos  $D_2$ ). Decorridos 30 minutos os animais foram submetidos ao TSC ou TCA.

#### 4.5.4 Investigação do efeito do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* com antidepressivos no TSC

Para investigar um possível efeito sinérgico entre diferentes antidepressivos e o extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*, os animais receberam (p.o.) veículo ou doses sub-ativas de fluoxetina (5 mg/kg, antidepressivo ISRS), imipramina (0,1 mg/kg, inibidor da recaptação de serotonina e noradrenalina / antidepressivo tricíclico) ou bupropiona (1 mg/kg, antidepressivo atípico que é um potente inibidor da recaptação de dopamina, com atividade na recaptação de noradrenalina). Imediatamente depois, os animais foram tratados com uma dose sub-ativa do extrato de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) ou água destilada (veículo). Decorridos 60 minutos das administrações, os animais foram submetidos ao TSC ou TCA (Brocardo et al., 2008).

### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, conforme o protocolo experimental seguida de teste *post hoc* de Newman-Keuls, quando apropriado. Foram considerados significativos os valores de  $P < 0,05$ .

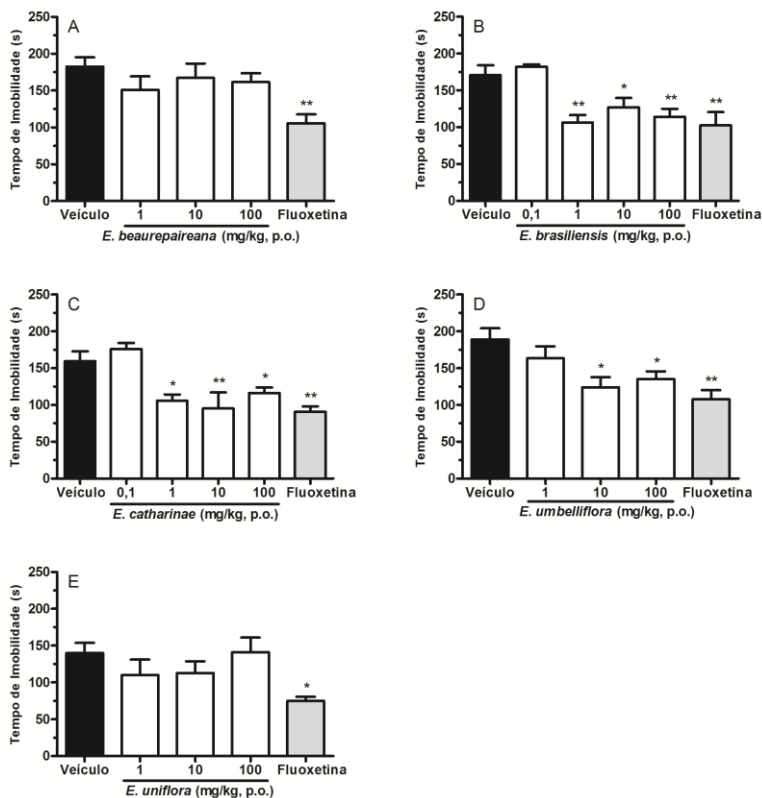
## 5. RESULTADOS

### 5.1 ATIVIDADE TIPO-ANTIDEPRESSIVA DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE *EUGENIA*

A **Figura 1** mostra os resultados obtidos pelo tratamento dos camundongos por via oral com os extratos hidroalcoólicos de *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. umbelliflora*, *E. uniflora* e fluoxetina (10 mg/kg, controle positivo), administrados em diferentes doses, no TSC. A ANOVA de uma via revelou um efeito tipo-antidepressivo significativo para o tratamento com os extratos de *E. brasiliensis* e *E. catharinae* (1, 10 e 100 mg/kg), e *E. beaurepaireana* (10 e 100mg/kg) no TSC. [(F(4,35) = 3,66, P<0,01; F(5,42) = 7,81, P<0,01; F(5,42) = 8,26, P<0,01; F(4,35) = 5,56, P<0,01; F(4,30) = 2,74, P<0,05 respectivamente)].

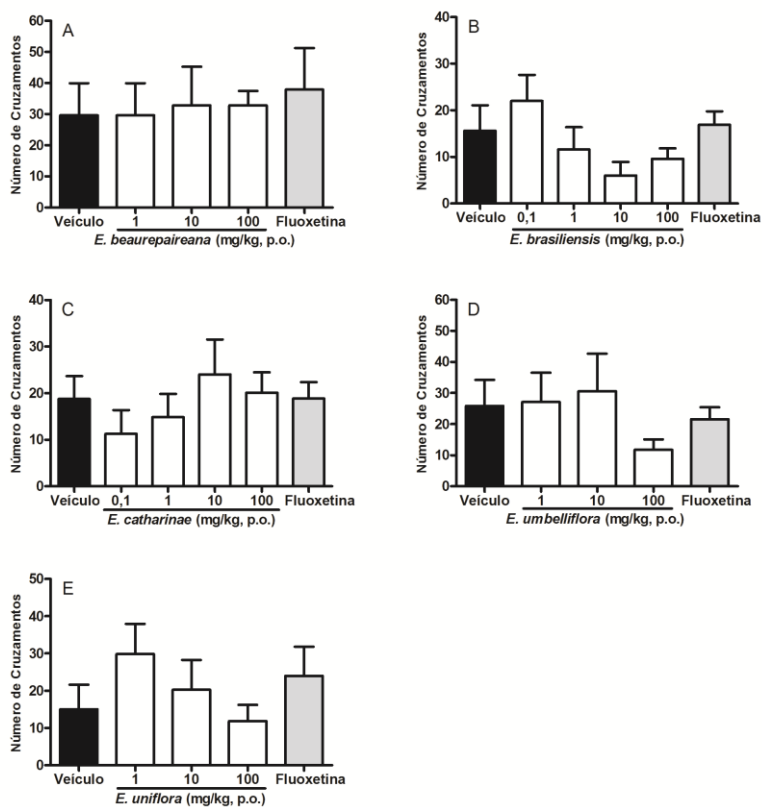
A **Figura 2** mostra que a administração dos extratos (*E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. Umbelliflora*, *E. Uniflora*) e da fluoxetina não alterou a atividade locomotora dos animais no TCA, [(F(4,35) = 0,65, P = 0,63; F(5,42) = 1,85, P = 0,12; F(5,42) = 0,71, P = 0,62; F(4,35) = 0,80, P = 0,53; F(4,30) = 1,01, P = 0,42 respectivamente)], descartando um possível efeito psicoestimulante dos extratos no efeito tipo-antidepressivo destes no TSC.

De acordo com os resultados encontrados entre os diferentes extratos testados, *E. brasiliensis* apresentou resultados mais significativos no TSC (P<0,01 para as doses de 1 e 100 mg/kg) em comparação com as outras espécies analisadas, sem apresentar alteração no parâmetro de locomoção no TCA. Portanto, este extrato, na menor dose capaz de causar efeito (1 mg/kg), foi escolhido para investigar o envolvimento dos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico no seu efeito.



**Figura 1.** Efeito do tratamento com *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. umbelliflora* e *E. uniflora*, ou veículo no TSC em camundongos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 7-8$ ), \* $P < 0,05$  e \*\* $P < 0,01$  quando comparado aos animais tratados com veículo (V).

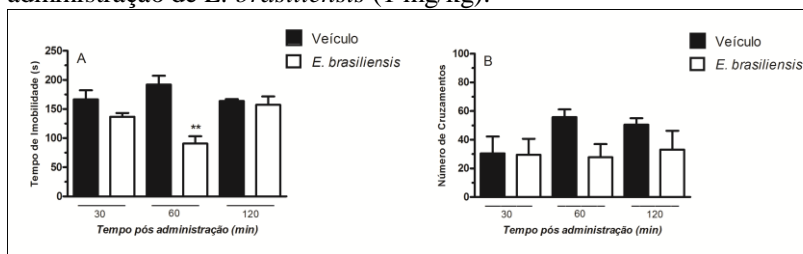




**Figura 2.** Efeito do tratamento com *E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. umbelliflora* e *E. uniflora*, ou veículo no TCA em camundongos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 7-8$ ).

## 5.2 CURVA TEMPO-RESPOSTA – *EUGENIA BRASILIENSIS*

A **Figura 3A** demonstra que o efeito tipo-antidepressivo no TSC ocorreu 60 minutos após a administração do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.), mas não após 30 e 90 minutos. A **Figura 3B** demonstra que a administração do extrato de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) nos três tempos não apresentou nenhum efeito significativo no TCA. Considerando estes resultados, todos os experimentos seguintes foram realizados utilizando o intervalo de tempo de 60 minutos após a administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg).

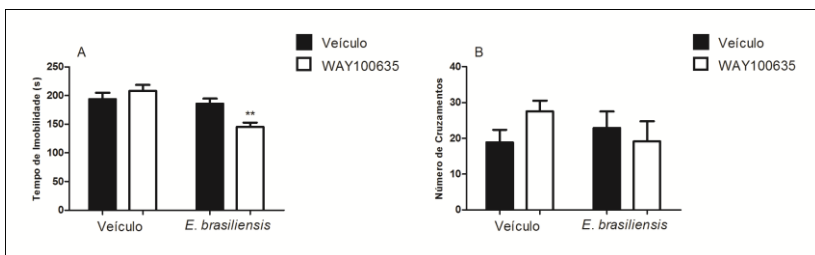


**Figura 3.** Curva tempo-resposta de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) ou veículo no TSC (A) e TCA (B) em camundongos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8), \*\* $P < 0,01$  quando comparado aos animais tratados com veículo (V). A) 30' - ( $F(1,14) = 2,39$ ,  $P = 0,14$ ); 60' - ( $F(1,14) = 35,44$ ,  $P < 0,01$ ); 120' [ $F(1,14) = 0,33$ ,  $P = 0,58$ ]; B) 30' [ $F(1,14) = 0,01$ ,  $P = 0,90$ ]; 60' [ $F(1,14) = 3,04$ ,  $P = 0,10$ ]; 120' [ $F(1,14) = 1,66$ ,  $P = 0,22$ ].

## 5.3 ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS MONOAMINÉRGICOS NO EFEITO TIPO-ANTIDEPRESSIVO DE *E. BRASILIENSIS*

### 5.3.1 Envolvimento do sistema serotoninérgico

A **Figura 4A** mostra que o tratamento com WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c., antagonista seletivo de receptores 5-HT<sub>1A</sub>) foi efetivo em potencializar o efeito de uma dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC. A **Figura 4B** mostra que a administração de WAY100635 *per se* ou em combinação com *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) não afetou a atividade locomotora dos animais no TCA.

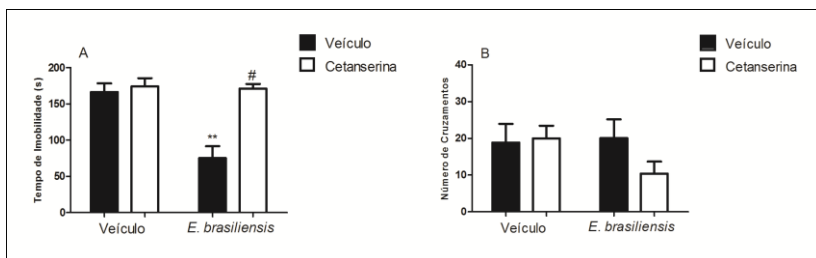


**Figura 4.** Efeito do tratamento com WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c.) na ação tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e sobre a locomoção no TCA (B). Os valores estão expressos com média  $\pm$  E.P.M. (n = 8). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. \*\*P<0,01 em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [F(1,28) = 13,75, P < 0,01], tratamento [F(1,28) = 1,88, P = 0,18] e interação [F(1,28) = 8,18, P < 0,01].

B) Pré-tratamento [F(1,28) = 0,26; P = 0,62], tratamento [F(1,28) = 0,32; P = 0,58] e interação [F(1,28) = 2,04; P = 0,16].

Os resultados apresentados na **Figura 5A** mostram que o pré-tratamento dos animais com cetanserina (5 mg/kg, i.p., antagonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>) preveniu significativamente a redução do tempo de imobilidade provocada pelo tratamento dos animais com uma dose ativa de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC, sem alterar a atividade locomotora no TCA (**Figura 5B**).



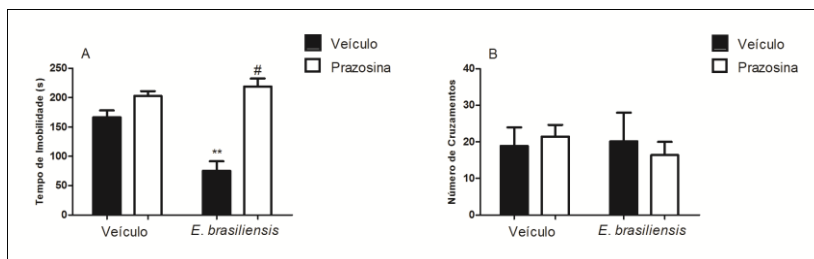
**Figura 5** Efeito do pré-tratamento com cetanserina (5 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8), \*\*  $P < 0,01$  quando comparado com grupo controle (veículo), #  $P < 0,01$  quando comparado com o mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [F(1,28) = 18,45,  $P < 0,01$ ], tratamento [F(1,28) = 15,30,  $P < 0,01$ ] e interação [F(1,28) = 13,34,  $P < 0,01$ ].

B) Pré-tratamento [F(1,28) = 1,00;  $P = 0,32$ ], tratamento [F(1,28) = 0,94;  $P = 0,34$ ] e interação [F(1,28) = 1,59;  $P = 0,22$ ].

### 5.3.2 Envolvimento do sistema noradrenérgico

Conforme demonstrado na **Figura 6A**, o pré-tratamento dos animais com prazosina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos) foi capaz de reverter o efeito tipo-antidepressivo de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC, sem alterar a locomoção no TCA (**Figura 6A**).



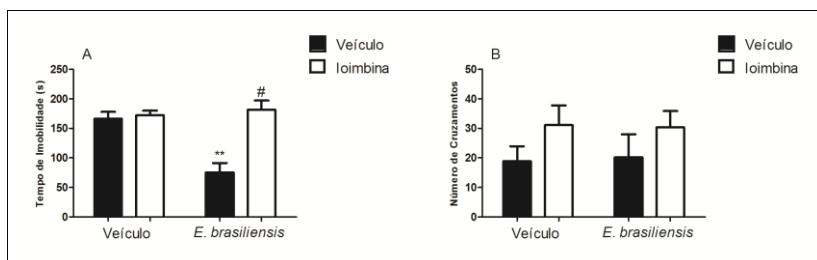
**Figura 6.** Efeito do pré-tratamento com prazosina (1 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8), \*\*  $P < 0,01$  quando comparado com grupo controle (veículo), #  $P < 0,01$  quando comparado com o mesmo grupo pré-tratado com veículo.

< 0,01 quando comparado com grupo controle (veículo), #  $P < 0,01$  quando comparado com o mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 48,50$ ,  $P < 0,01$ ], tratamento [ $F(1,28) = 8,48$ ,  $P < 0,01$ ] e interação [ $F(1,28) = 17,14$ ,  $P < 0,01$ ].

B) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 0,01$ ;  $P = 0,91$ ], tratamento [ $F(1,28) = 0,13$ ;  $P = 0,72$ ] e interação [ $F(1,28) = 0,35$ ;  $P = 0,56$ ].

Conforme demonstrado na **Figura 7A**, o pré-tratamento dos animais com ioimbina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos) foi capaz de reverter o efeito tipo-antidepressivo de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC, sem alterar a locomoção no TCA (**Figura 7B**).

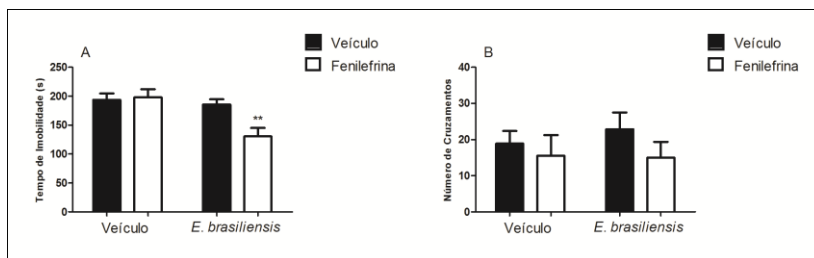


**Figura 7. Efeito do pré-tratamento com ioimbina (1 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B).** Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 8$ ), \*\*  $P < 0,01$  quando comparado com grupo controle (veículo), #  $P < 0,01$  quando comparado com o mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 17,98$ ,  $P < 0,01$ ], tratamento [ $F(1,28) = 9,44$ ,  $P < 0,01$ ] e interação [ $F(1,28) = 14,42$ ,  $P < 0,01$ ].

B) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 3,11$ ;  $P = 0,09$ ], tratamento [ $F(1,28) = 0,001$ ;  $P = 0,97$ ] e interação [ $F(1,28) = 0,02$ ;  $P = 0,88$ ].

Os resultados da **Figura 8A** mostram que o tratamento dos animais com fenilefrina (5 mg/kg, s.c., agonista de  $\alpha_1$ -adrenoceptores) potencializou o efeito de uma dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC, sem causar alteração na atividade locomotora dos animais no TCA (**Figura 8B**).

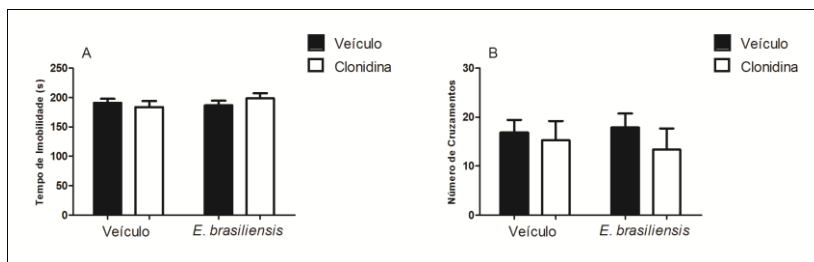


**Figura 8. Efeito do tratamento com fenilefrina (5 mg/kg, s.c.) em potencializar a ação tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B).** Os valores estão expressos com média  $\pm$  E.P.M. (n = 8). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. \*\* $P < 0,01$  em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [F(1,28) = 9,37,  $P < 0,01$ ], tratamento [F(1,28) = 4,28,  $P < 0,05$ ] e interação [F(1,28) = 5,78,  $P < 0,05$ ].

B) Pré-tratamento [F(1,28) = 0,14;  $P = 0,71$ ], tratamento [F(1,28) = 1,47;  $P = 0,23$ ] e interação [F(1,28) = 0,24;  $P = 0,63$ ].

A **Figura 9A** mostra que o tratamento dos animais com clonidina (0,06 mg/kg, i.p., agonista de  $\alpha_2$ -adrenoceptores) não foi capaz de potencializar o efeito de uma dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC, não causando alterações na atividade locomotora dos animais no TCA (**Figura 9B**).



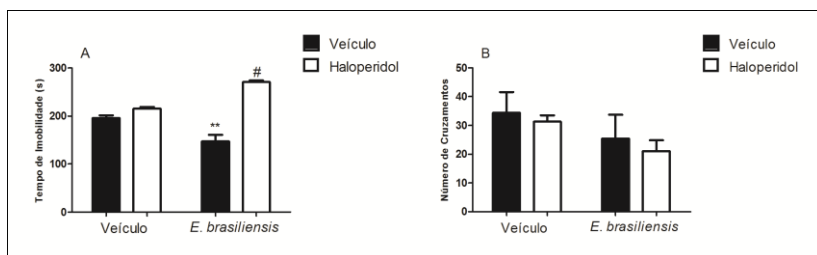
**Figura 9. Efeito do tratamento com clonidina (0,06 mg/kg, i.p.) na ação tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B).** Os valores estão expressos com média  $\pm$  E.P.M. (n = 8). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls.

A) Pré-tratamento [F(1,28) = 0,42,  $P = 0,52$ ], tratamento [F(1,28) = 0,08  $P = 0,78$ ] e interação [F(1,28) = 1,31,  $P = 0,26$ ].

B) Pré-tratamento [F(1,28) = 0,02;  $P = 0,90$ ], tratamento [F(1,28) = 0,76;  $P = 0,39$ ] e interação [F(1,28) = 0,17;  $P = 0,68$ ].

### 5.3.3 Envolvimento do sistema dopaminérgico

Os resultados da **Figura 10A** mostram que o pré-tratamento dos animais com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., antagonista não seletivo de receptores dopaminérgicos) preveniu significativamente a redução do tempo de imobilidade provocada pelo tratamento dos animais com uma dose ativa de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC, sem alterar significativamente a atividade locomotora no TCA (**Figura 10B**).

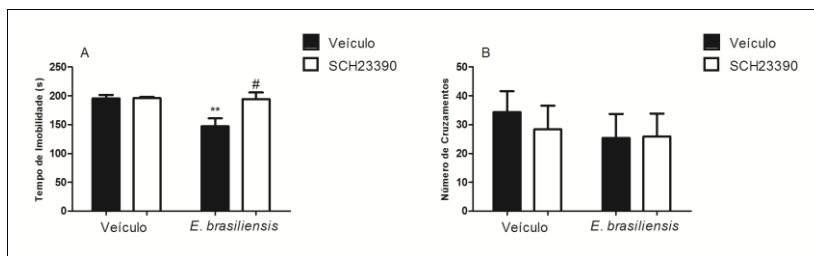


**Figura 10. Efeito do pré-tratamento com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B)..** Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8), \*\* P < 0,01 quando comparado com grupo controle (veículo), # P < 0,01 quando comparado com o mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [F(1,28) = 87,46, P < 0,01], tratamento [F(1,28) = 0,15, P < 0,01] e interação [F(1,28) = 44,96, P < 0,01].

B) Pré-tratamento [F(1,28) = 0,40; P = 0,53], tratamento [F(1,28) = 2,61; P = 0,12] e interação [F(1,28) = 0,01; P = 0,92].

O pré-tratamento com SCH23390 (0,05 mg/kg, s.c., antagonista de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>) preveniu a redução do tempo de imobilidade provocada pelo tratamento dos animais com *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (**Figura 11A**), sem alterar significativamente a locomoção no TCA (**Figura 11B**).

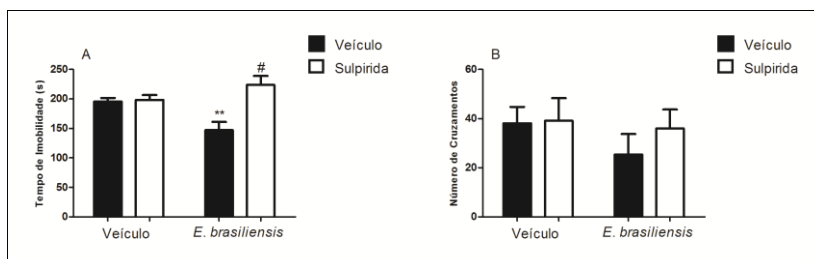


**Figura 11. Efeito do pré-tratamento com SCH23390 (0,05 mg/kg, s.c.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B).** Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8), \*\*  $P < 0,01$  quando comparado com grupo controle (veículo), #  $P < 0,01$  quando comparado com o mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 6,27$ ,  $P < 0,05$ ], tratamento [ $F(1,28) = 6,95$ ,  $P < 0,05$ ] e interação [ $F(1,28) = 6,20$ ,  $P < 0,05$ ].

B) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 0,12$ ;  $P = 0,73$ ], tratamento [ $F(1,28) = 0,52$ ;  $P = 0,47$ ] e interação [ $F(1,28) = 0,17$ ;  $P = 0,68$ ].

A **Figura 12A** mostra que o pré tratamento com sulpirida (50 mg/kg, i.p., antagonista de receptores dopaminérgicos  $D_2$ ) foi efetivo em prevenir o efeito tipo-antidepressivo de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC, não causando alterações nos parâmetros de locomoção no TCA (**Figura 12B**).



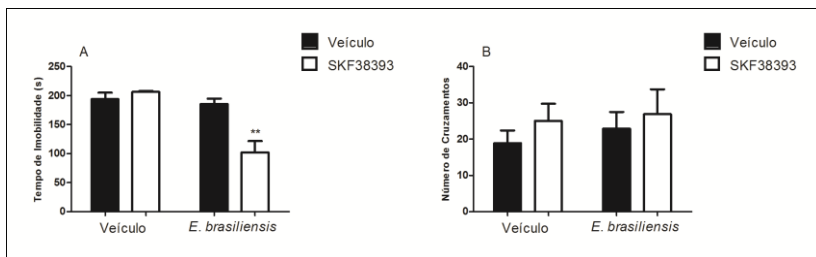
**Figura 12. Efeito do pré-tratamento com sulpirida (50 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade provocada pela administração de *E. brasiliensis* (1 mg/kg, p.o.) no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B).** Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8), \*\*  $P < 0,01$  quando comparado com grupo controle (veículo), #  $P < 0,01$  quando comparado com o mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 12,42$ ,  $P < 0,01$ ], tratamento [ $F(1,28) = 1,04$ ,  $P = 0,32$ ] e interação [ $F(1,28) = 10,84$ ,  $P < 0,01$ ].



B) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 0,89$ ;  $P = 0,35$ ], tratamento [ $F(1,28) = 0,55$ ;  $P = 0,46$ ] e interação [ $F(1,28) = 0,13$ ;  $P = 0,72$ ].

Os resultados apresentados na **Figura 13A** mostram que o tratamento dos animais com doses sub-ativas de SKF38393 (0,1 mg/kg, s.c., agonista de receptores dopaminérgicos  $D_1$ ) potencializou o efeito da dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC, sem alterar a atividade locomotora no TCA (**Figura 13B**).

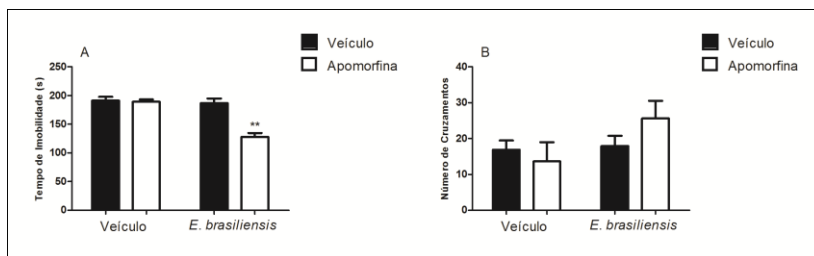


**Figura 13. Efeito do tratamento com SKF38393 (0,1 mg/kg, i.p.) em potencializar a ação tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B).** Os valores estão expressos com média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 6-9$ ). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. \*\* $P < 0,01$  em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 21,38$ ,  $P < 0,01$ ], tratamento [ $F(1,28) = 8,68$ ,  $P < 0,01$ ] e interação [ $F(1,28) = 15,64$ ,  $P < 0,01$ ].

B) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 0,33$ ;  $P = 0,57$ ], tratamento [ $F(1,28) = 0,99$ ;  $P = 0,33$ ] e interação [ $F(1,28) = 0,04$ ;  $P = 0,84$ ].

Os resultados apresentados na **Figura 14A** mostram que o tratamento dos animais com doses sub-ativas de apomorfina (0,5  $\mu$ g/kg, i.p., agonista de receptores dopaminérgicos  $D_2$ ) potencializou o efeito da dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC, sem alterar a atividade locomotora no TCA (**Figura 14B**).



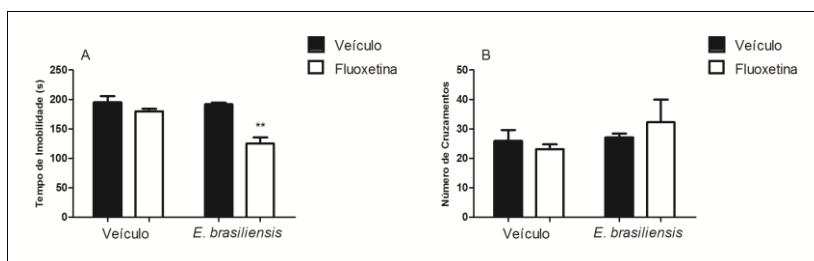
**Figura 14.** Efeito do tratamento com apomorfina (0,5 µg/kg, i.p.) em potencializar a ação tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) no TSC (A), e na atividade locomotora no TCA (B). Os valores estão expressos com média ± E.P.M. (n = 6-9). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. \*\*P<0,01 em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [F(1,28) = 25,03, P < 0,01], tratamento [F(1,28) = 22,06, P < 0,01] e interação [F(1,28) = 19,11, P<0,01].

B) Pré-tratamento [F(1,28) = 2,48; P = 0,13], tratamento [F(1,28) = 0,30; P = 0,59] e interação [F(1,28) = 1,77; P = 0,19].

#### 5.4 EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *E. brasiliensis* COM ANTIDEPRESSIVOS NO TSC.

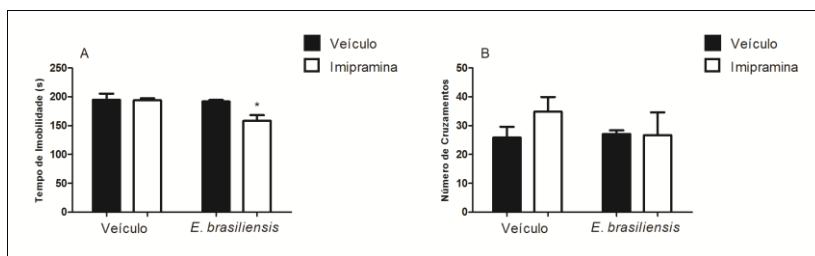
Os resultados apresentados na **Figura 15A** mostram um efeito sinérgico da co-administração (p.o.) de doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg) com fluoxetina (5 mg/kg, antidepressivo ISRS) no TSC, sem causar alteração locomotora no TCA (**Figura 15B**).



**Figura 15.** Efeito da administração de doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) e de fluoxetina (5 mg/kg, p.o.) na redução do tempo de imobilidade no TSC (A), e sobre a locomoção no TCA (B). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média ± E.P.M. (n = 8), \*\* P < 0,01 quando comparado com grupo controle (Veículo).

A) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 13,25$ ,  $P < 0,01$ ], tratamento [ $F(1,28) = 26,56$ ,  $P < 0,01$ ] e interação [ $F(1,28) = 10,75$ ,  $P < 0,01$ ].  
 B) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 1,39$ ;  $P = 0,25$ ], tratamento [ $F(1,28) = 0,07$ ;  $P = 0,79$ ] e interação [ $F(1,28) = 0,80$ ;  $P = 0,38$ ].

A **Figura 16A** mostra que a co-administração de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) com imipramina (0,1 mg/kg, p.o., antidepressivo tricíclico) apresentou uma diminuição no tempo de imobilidade, sem causar alteração locomotora no TCA (**Figura 16B**).

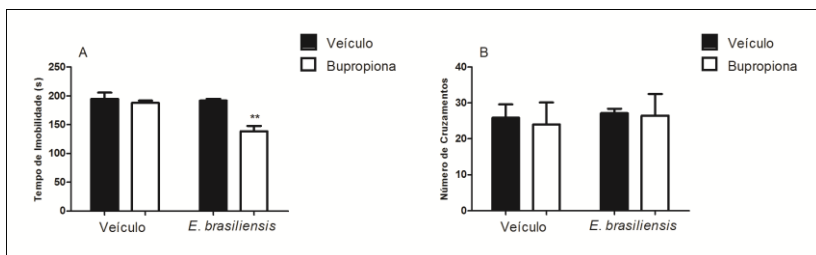


**Figura 16. Efeito da administração de doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) e de imipramina (0,1 mg/kg, p.o.) na redução do tempo de imobilidade no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B).** Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 8$ ), \* $P < 0,05$  quando comparado com grupo controle (Veículo).

A) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 6,42$ ,  $P < 0,05$ ], tratamento [ $F(1,28) = 5,08$ ,  $P < 0,05$ ] e interação [ $F(1,28) = 4,65$ ,  $P < 0,05$ ].

B) Pré-tratamento [ $F(1,28) = 0,46$ ;  $P = 0,50$ ], tratamento [ $F(1,28) = 0,72$ ;  $P = 0,40$ ] e interação [ $F(1,28) = 0,85$ ;  $P = 0,36$ ].

Os resultados apresentados na **Figura 17A** mostram um efeito sinérgico da co-administração p.o. das doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg) com bupropiona em (1 mg/kg, antidepressivo atípico que é um potente inibidor da recaptação de dopamina, com atividade na recaptação de noradrenalina) no TSC (A), sem causar alteração na locomoção no TCA (**Figura 17B**).



**Figura 17. Efeito da administração de doses sub-ativas de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg, p.o.) e de bupropiona (1 mg/kg, p.o.) na redução do tempo de imobilidade no TSC (A) e sobre a locomoção no TCA (B). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Newman Keuls. Os valores estão expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n = 8), \*\* P < 0,01 quando comparado com grupo controle (Veículo).**

A) Pré-tratamento [F(1,28) = 11,63, P < 0,01], tratamento [F(1,28) = 15,62 P < 0,01] e interação [F(1,28) = 9,19, P < 0,01].

B) Pré-tratamento [F(1,28) = 0,14; P = 0,71], tratamento [F(1,28) = 0,07; P = 0,79] e interação [F(1,28) = 0,02; P = 0,90].

## 6. DISCUSSÃO

Este estudo teve por objetivo: investigar o potencial tipo-antidepressivo do extrato hidroalcoólico de diferentes espécies de plantas do gênero *Eugenia* (*E. beaurepaireana*, *E. brasiliensis*, *E. catharinae*, *E. umbelliflora* e *E. uniflora*); investigar o envolvimento dos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico no efeito tipo-antidepressivo do extrato da espécie *E. brasiliensis*; e investigar o efeito da administração de doses sub-ativas do extrato de *E. brasiliensis*, em conjunto com doses sub-ativas de antidepressivos convencionais (fluoxetina, imipramina e bupropiona) sobre o comportamento tipo-depressivo no TSC e locomotor no TCA.

Um dos modelos experimentais mais utilizados na pesquisa de drogas com possível potencial antidepressivo é o TSC, sendo que neste teste a maioria dos antidepressivos, incluindo os tricíclicos, os inibidores da monoamina oxidase (MAO) e os atípicos, reduzem o tempo de imobilidade dos animais (Steru et al., 1985; Cryan et al., 2005). Os antidepressivos levam a um aumento na tentativa de escape do animal quando suspenso pela cauda, considerando a falta de mobilidade do animal como um estado de desespero comportamental (Steru et al., 1985). Porém, compostos que promovem um aumento da atividade locomotora dos animais podem produzir um resultado falso positivo no TSC. Os efeitos de drogas psicoestimulantes podem ser diferenciados de antidepressivos por aumentarem a atividade motora (Borsini e Meli, 1988). Dessa forma, para excluir a possibilidade de que a redução no tempo de imobilidade produzida por determinado composto no TSC, seja devido a um aumento da atividade locomotora dos animais, é utilizado o TCA.

Os resultados do presente estudo mostram que, dentre as cinco espécies analisadas, três espécies apresentaram efeito tipo-antidepressivo no TSC em diferentes doses, sem causar alterações significativas no TCA. Sendo estas espécies: *E. brasiliensis*, *E. catharinae* e *E. umbelliflora*, tendo seus efeitos comparados com a fluoxetina (10 mg/kg), controle positivo. As espécies *E. brasiliensis* e *E. catharinae*, destacaram-se por apresentar efeito em todas as doses testadas (1, 10 e 100 mg/kg), sendo a espécie *E. brasiliensis* selecionada para a análise do envolvimento dos sistemas monoaminérgicos no seu efeito e avaliação da administração em conjunto com doses sub-ativas de antidepressivos, uma vez que apresentou os resultados mais significativos ( $p < 0,01$ ) na menor dose (1 mg/kg) quando comparada as

outras espécies. Como dose sub-ativa, foi selecionada a dose de 0,1 mg/kg, a qual não apresentou efeito tipo-antidepressivo.

A literatura mostra que do fracionamento cromatográfico de *E. brasiliensis* foram isolados uma mistura de  $\alpha$ -amirina e  $\beta$ -amirina e betulina da fração insolúvel, ácido 29-hidroxi-oleanólico da fração diclorometano, e o flavonóide quercetina, juntamente com catequina e galocatequina da fração acetato de etila (Magina, 2008).  $\alpha$  e  $\beta$ -amirina isoladas de *Protium heptaphyllum*, nas doses de 2,5 e 5 mg/kg, foram capazes de reduzir o tempo de imobilidade no TNF apresentando assim, um efeito tipo-antidepressivo neste teste (Aragão et al., 2006). A quercetina também teve seu efeito tipo-antidepressivo demonstrado, através da redução do tempo de imobilidade no TNF (Kaur et al., 2007; Bhutada et al., 2010.), e também mostrou ser capaz de inibir a atividade da enzima MAO-A (Chimenti et al., 2006; Saaby et al., 2009). Estudos *in vitro* demonstraram que outro composto encontrado em *E. brasiliensis*, a catequina, foi capaz de inibir a captação de serotonina, noradrenalina e dopamina em sinaptossomas (Rocha et al., 2007). Outro flavonóide encontrado na *E. brasiliensis* é a rutina (Fischer et al., 2003) que isolada de *Schinus molle*, teve seu efeito tipo-antidepressivo demonstrado no TSC por nosso grupo de pesquisa (Machado et al., 2008), o efeito mostrou-se dependente dos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico, uma vez que o pré-tratamento com inibidores da síntese de serotonina (p-clorofenilalanina metil éster – PCPA) e noradrenalina (a-metil-p-tirosina – AMPT) foi capaz de prevenir a sua ação tipo-antidepressiva. A rutina parece também ser essencial no efeito tipo-antidepressivo de *Hypericum perforatum* no TNF (Nöldner e Schötz, 2002). O ácido ursólico também foi descrito como um dos principais constituintes nas folhas de *Eugenia brasiliensis* (Frighetto et al., 2005). Nosso grupo de pesquisa também demonstrou que este composto apresenta atividade tipo-antidepressiva no TSC (dados ainda não publicados).

Na análise da curva tempo-resposta, o extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* na dose de 1 mg/kg, foi efetivo em reduzir o tempo de imobilidade dos animais no TSC somente 60 minutos após administração por via p.o., sendo este tempo utilizado para a análise do envolvimento dos sistemas monoaminérgicos no efeito tipo-antidepressivo de *E. brasiliensis*. A ausência de efeito no TSC após 120 minutos da administração do extrato pode ser decorrente da sua metabolização em produtos que não contribuem para o efeito tipo-antidepressivo. Porém, cabe ressaltar que o metabolismo e farmacocinética do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* (1 mg/kg,

p.o.) ainda não é conhecido, o que dificulta a compreensão dos resultados encontrados. Resultados similares foram encontrados por Freitas et al. (2010), que demonstraram que o extrato etanólico de *Tabebuia avellanedae*, apesar de apresentar efeito tipo-antidepressivo no TSC após 30 e 60 minutos de sua administração, também não apresentou efeito após 120 minutos da administração.

Os receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT<sub>1A</sub> estão diretamente relacionados ao efeito clínico dos antidepressivos (Celada et al., 2004). A administração de antidepressivos convencionais, como os ISRS e os iMAO, produz um efeito paradoxal: por um lado os níveis de serotonina são imediatamente elevados e os receptores pós-sinápticos ativados, aumentando a transmissão serotoninérgica; por outro lado, o aumento dos níveis de serotonina na fenda sináptica promove a ativação dos auto-receptores inibitórios 5-HT<sub>1A</sub>, que diminuem a taxa de disparo dos neurônios pré-sinápticos (Artigas et al., 1996). Esta ação faz com que o efeito final da administração do antidepressivo seja menor que o esperado e pode contribuir para a demora da resposta terapêutica a estes fármacos, uma vez que somente a sua administração crônica é capaz de dessensibilizar estes receptores, atenuando seu efeito sobre a célula pré-sináptica (Celada et al., 2004). Os resultados do presente estudo mostram que a administração de WAY100635 (antagonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub>) possui efeito sinérgico com uma dose sub-ativa do extrato de *E. brasiliensis* (0,1mg/kg), sem alterar a atividade locomotora dos animais no TCA, sugerindo que o bloqueio destes receptores contribui com a ação tipo-antidepressiva deste extrato. Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Rocha et al. (1997), onde o tratamento com WAY100635 foi capaz de potencializar o efeito de uma dose sub-ativa de fluoxetina no TNF, e por Lobato (2009) que mostrou que o tratamento com este antagonista foi capaz de potencializar a ação tipo-antidepressiva do  $\alpha$ -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF e por Kaster (2005) onde potencializou o efeito da adenosina (1 mg/kg, i.p.) no TNF.

Os receptores 5-HT<sub>2</sub> possuem ampla distribuição ao longo do encéfalo, estando presentes em regiões intimamente ligadas com a etiologia da depressão, como o córtex pré-frontal e o hipocampo (Krishnan et al, 1991; Ishihara e Sasa, 2001; Nestler et al., 2002a). Sugere-se que a ativação desses receptores pode estar implicada na regulação de transtornos de humor (Hoyer et al., 1986; Celada et al., 2004). Foi mostrado que o agonista preferencial de receptores 5-HT<sub>2A</sub>, DOI, é capaz de aumentar o efeito tipo-antidepressivo de vários compostos (Zomkowski et al., 2004; Khisti e Chopde, 2000). Outro

estudo demonstrou que o agonista de receptores 5-HT<sub>2C</sub> (Ro 60-0175) foi efetivo em potencializar doses sub-ativas de antidepressivos tricíclicos e antidepressivos inibidores da recaptação de serotonina no TNF (Clenet et al., 2001), sugerindo que a ativação desses receptores está envolvida na resposta de antidepressivos. Neste estudo, o bloqueio de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> através da administração do antagonista cetanserina foi efetivo em prevenir o efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis* (1 mg/kg), o que indica que o efeito do extrato é, em parte, dependente de uma interação com esses receptores. Resultados similares foram apresentado por nosso grupo em estudos prévios nos quais a cetanserina foi eficaz em reverter o efeito tipo-antidepressivo da agmatina (Zomkowski et al., 2004), da lectina isolada de *Canavalia brasiliensis* (Barauna et al., 2006) em camundongos no TNF e do extrato de *Rosmarinus officinalis* no TSC (Machado et al., 2009).

Para reforçar a ideia da participação da serotonina no efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis*, um possível efeito sinérgico entre o extrato e a fluoxetina (ISRS) no TSC foi investigado. A fluoxetina, antidepressivo que aumenta a disponibilidade de serotonina na fenda sináptica, quando co-administrada (p.o.) com o extrato de *E. brasiliensis*, em doses que não tem efeito *per se*, potencializou o efeito tipo-antidepressivo do extrato, sem alterar a atividade locomotora dos animais. Assim, a ação tipo-antidepressiva do extrato parece ser mediada, pelo menos em parte, por um aumento dos níveis de serotonina na fenda sináptica.

A hipótese serotoninérgica da depressão (Głowinski e Axelrod, 1964; Schildkraut, 1965) associou os sintomas depressivos com a redução da concentração de serotonina nas sinapses do encéfalo e, por outro lado, o mecanismo de ação antidepressiva com o aumento das concentrações desse neurotransmissor. Consistente com esta hipótese, a grande maioria dos fármacos utilizados atualmente para o tratamento da depressão aumentam os níveis sinápticos de serotonina (Risch e Nemeroff, 1992). Além disso, vale ressaltar que muitos extratos de plantas e compostos isolados desses extratos exibem efeito tipo-antidepressivo mediado pela modulação do sistema serotoninérgica (McGarry et al., 2007; Machado et al., 2007, 2008; Freitas et al., 2010). Estudos pré-clínicos e clínicos mostram que o aumento na transmissão serotoninérgica causa efeitos na transmissão noradrenérgica e vice-versa, confirmando que serotonina e noradrenalina estão intimamente relacionadas no SNC (Gorman e Sullivan, 2000; Szabo e Blier, 2001a, 2001b). Pacientes com depressão apresentam distúrbios nesta interação,



o que sugere que uma falha na comunicação entre estes sistemas pode estar envolvida na patogênese desta doença (Geraciotti et al., 1997). Além disso, camundongos que tiveram seus níveis endógenos de NA depletados, não responderam a diferentes antidepressivos, incluindo os ISRS no TSC (Cryan et al., 2004). Adicionalmente, estudos clínicos têm mostrado que o tratamento com antidepressivos que inibem a recaptação de serotonina e noradrenalina, como a venlafaxina, possui uma maior eficácia clínica que ISRS (Rudolph, 2002; Stahl et al., 2002; Papakostas et al., 2007).

O sistema noradrenérgico, por si só, está classicamente implicado na fisiopatologia da depressão e no mecanismo de ação de antidepressivos (Frazer, 2000; Nutt, 2006). Compostos ou drogas que afetam a neurotransmissão noradrenérgica, como ISRN ou os inibidores da enzima monoamina oxidase (iMAO, que inibem a inativação de monoaminas incluindo a noradrenalina), são amplamente utilizados para tratar depressão (Páez-Pereda, 2005). Diversos estudos demonstram que os receptores  $\alpha_1$ - e  $\alpha_2$  adrenérgicos estão envolvidos na resposta tipo-antidepressiva de drogas ou compostos em modelos animais de depressão (Kitada et al., 1983; Danysz et al., 1986; Masuda et al., 2001). Danysz et al. (1986) mostrou que o pré-tratamento com o antagonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos prazosina foi capaz de prevenir a ação tipo-antidepressiva de desipramina (um antidepressivo tricíclico com maior afinidade pela recaptação de noradrenalina). Além disso, o efeito tipo-antidepressivo da clonidina (um agonista seletivo de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos) no TNF foi revertido pelo pré-tratamento com ioimbina, antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos (O'Neill et al. 2001).

Tendo em vista a importante relação do sistema noradrenérgico na fisiopatologia e tratamento da depressão, este estudo também investigou o envolvimento dos receptores noradrenérgicos no efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis*.

Os resultados do presente estudo mostram que o pré-tratamento dos camundongos com prazosina (antagonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos) ou ioimbina (antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos) foi capaz de prevenir completamente o efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis* no TSC. Estudos demonstraram que a ativação destes receptores é essencial para o efeito de antidepressivos que melhoram a transmissão noradrenérgica, uma vez que antagonistas  $\alpha$ -adrenérgicos são capazes de bloquear os efeitos da desipramina (Brunello et al., 2002; Millan, 2004). Adicionalmente, o tratamento com fenilefrina (um agonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos pós-sinápticos),

em uma dose que não possui efeito *per se* no TSC, foi capaz de potencializar o efeito tipo-antidepressivo de uma dose sub-ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg), sugerindo que o extrato pode compartilhar o mesmo mecanismo de ação com os agonistas noradrenérgicos e reforçando a ideia de que a ativação dos receptores  $\alpha$ -adrenérgicos é necessária para o seu efeito tipo-antidepressivo. Porém a administração de clonidina (agonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos pós-sinápticos) em conjunto com dose sub-ativa de *E. brasiliensis* não foi capaz de potencializar o efeito tipo-antidepressivo do extrato. Dados da literatura demonstram que o efeito anti-imobilidade da clonidina no TNF pode ser mediado por receptores 5-HT<sub>2C</sub>, mostrando que o sistema serotoninérgico pode modular a resposta do receptor  $\alpha_2$ -adrenérgico (Redrobe e Bourin, 1998). De fato, foi demonstrado que a ioimbina (1 mg/kg), que neste trabalho foi efetiva em reverter o efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis*, pode atuar de maneira não seletiva como um antagonista serotoninérgico (Dwoskin, 1988). Consequentemente, a ioimbina poderia ser efetiva em reverter o efeito tipo-antidepressivo do extrato pelo antagonismo de receptores serotoninérgicos e não apenas pelo antagonismo de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos. Desta forma, nossos resultados sugerem que o extrato pode compartilhar o mesmo mecanismo de ação com o sistema noradrenérgico, porém o papel dos receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos ainda não está totalmente elucidado.

Para reforçar a ideia da participação dos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico no efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis*, um possível efeito sinérgico entre o extrato e a imipramina (inibidor da recaptação de serotonina e noradrenalina / antidepressivo tricíclico) no TSC foi investigado. A imipramina, quando co-administrada (p.o.) com extrato de *E. brasiliensis*, em doses que não tem efeito *per se*, potencializa o efeito tipo-antidepressivo do extrato, sem alterar a atividade locomotora dos animais, reforçando a participação dos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico no efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis*.

O sistema dopaminérgico também está implicado na regulação do humor (D'Aquila *et al.*, 2000; Willner *et al.*, 2005). Existem diversas evidências que indicam que antidepressivos com efeitos no sistema dopaminérgico são eficazes para o tratamento da depressão (Papakostas, 2006). Os resultados do presente estudo mostram que o sistema dopaminérgico está envolvido na ação tipo-antidepressiva do extrato de *E. brasiliensis* no TSC, uma vez que o pré-tratamento dos animais com haloperidol (um antagonista não seletivo de receptores dopaminérgicos),

SCH23390 (antagonista de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>) e sulpirida (um antagonista seletivo de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>) preveniram o efeito tipo-antidepressivo provocado pelo extrato de *E. brasiliensis* no TSC. Além disso, reforçando a ideia da participação do sistema dopaminérgico na ação tipo-antidepressiva do extrato de *E. brasiliensis* no TSC, o tratamento com SKF38393 (0,1 mg/kg, s.c., agonista de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>) e apomorfina (0,5 µg/kg, i.p., agonista de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>), foi efetivo em potencializar o efeito de uma dose sub ativa de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg), no TSC, sem causar alterações locomotoras no TCA.

Estudos demonstram que o antagonismo de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> é efetivo em prevenir o efeito de diferentes compostos com ação tipo-antidepressiva, tanto no TNF quanto no TSC (Yamada *et al.*, 2004; Hirano *et al.*, 2007; Machado *et al.*, 2007, Binfaré *et al.*, 2010). Os receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> possuem sua relação com a depressão demonstrada por estudos clínicos que mostraram que agonistas desses receptores são efetivos em tratar pacientes com depressão (Waehrens e Gerlach, 1981). Além disso, estudos pré-clínicos revelam que estes receptores estão envolvidos na ação tipo-antidepressiva de diferentes antidepressivos no TNF em camundongos (Borsini e Meli, 1988; Yamada *et al.*, 2004). Adicionalmente, a terapia eletroconvulsiva, que é efetiva em causar uma redução do tempo de imobilidade dos animais no TSC, tem sua ação inibida pela administração de sulpirida (um antagonista seletivo de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>) (Teste *et al.*, 1990).

A bupropiona (antidepressivo atípico que é um potente inibidor da recaptação de dopamina, com atividade na recaptação de noradrenalina) quando co-administrada (p.o.) com extrato de *E. brasiliensis*, em doses que não tem efeito *per se*, potencializa o efeito tipo-antidepressivo do extrato, sem alterar a atividade locomotora dos animais. Assim, o sistema dopaminérgico parece também estar envolvido com a ação tipo-antidepressiva do extrato de *E. brasiliensis*. Os dados apresentados não permitem indicar precisamente o mecanismo pelo qual o extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* interage com os sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico, mas uma hipótese é que ele não interaja diretamente com os receptores destes sistemas, mas atue inibindo a recaptação de monoaminas e aumentando a disponibilidade dos neurotransmissores pertencentes a estes sistemas na fenda sináptica, uma vez que o extrato apresentou efeito sinérgico com os antidepressivos fluoxetina, imipramina e bupropiona. No entanto, estudos futuros são necessários para confirmar esta hipótese.

Cabe ressaltar que, em conjunto com o Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, será realizada a caracterização química do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*, a qual irá identificar os compostos presentes no extrato em questão, auxiliando no melhor entendimento tanto de sua composição quanto de quais seriam os compostos majoritários e possíveis responsáveis pela atividade tipo-antidepressiva de *E. brasiliensis*.

As monoaminas serotonina, noradrenalina e/ou dopamina estão envolvidas na etiologia de transtornos mentais, bem como da depressão maior (Elhwuegi, 2004). De fato, o transtorno depressivo foi primeiramente reconhecido como um fenômeno bioquímico na década de 1960 (Schildkraut, 1965). Desde então, a hipótese monoaminérgica da depressão tornou-se bem aceita e os mecanismos de ação dos antidepressivos convencionais baseiam-se em aumentar a biodisponibilidade de monoaminas no cérebro (Blier, 2001; Brunello *et al.*, 2002). Além disso, a neurotransmissão monoaminérgica está envolvida na expressão de efeitos tipo-antidepressivos em modelos animais preditivos de ação antidepressiva (Joca *et al.*, 2000; Elhwuegi, 2004; Yamada *et al.*, 2004).

A finalidade primária deste estudo foi investigar o potencial antidepressivo de diferentes espécies de plantas do gênero *Eugenia*. Os resultados demonstram que diferentes espécies (*E. brasiliensis*, *E. catharinae* e *E. umbelliflora*) pertencentes a este gênero apresentam efeito tipo-antidepressivo em diferentes doses. O extrato de *E. brasiliensis*, administrado p.o. produz efeito tipo-antidepressivo no TSC, o qual é dependente, ao menos em parte, de uma interação com os sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico.

Os resultados indicam que o extrato de *E. brasiliensis* possui efeito tipo-antidepressivo não relacionado à atividade locomotora no TSC. No entanto, deve ser considerado que o TSC não é um modelo de depressão *per se* e os resultados obtidos nesse modelo devem ser interpretados com cautela. Dessa forma, os dados deste estudo podem servir como embasamento para a execução de estudos animais complementares bem como estudos clínicos, os quais podem confirmar o efeito tipo-antidepressivo do extrato de *E. brasiliensis*.

Outro importante resultado do presente estudo é o de que a administração do extrato de *E. brasiliensis* potencializa o efeito de doses sub-ativas dos antidepressivos convencionais fluoxetina, imipramina e bupropiona, sem causar alteração na atividade locomotora dos animais. Fluoxetina (ISRS), imipramina (antidepressivo tricíclico) e bupropiona (um antidepressivo atípico que é um potente inibidor da recaptação de

dopamina, com atividade na recaptação de noradrenalina) são comumente utilizados para tratar depressão maior (Cooper *et al.*, 1980; Holtzheimer e Nemeroff, 2006; Wilkes, 2006). Estes antidepressivos, em muitos casos, são ineficazes no tratamento da depressão, apresentam baixa tolerabilidade e necessitam, relativamente, de longos períodos de tempo para que seus efeitos terapêuticos sejam atingidos (Nemeroff e Owens, 2002; Berton e Nestler, 2006; Holtzheimer e Nemeroff, 2006). Considerando-se a necessidade de tratamentos que atuem mais rapidamente, sejam mais toleráveis e efetivos para a depressão (Berton e Nestler, 2006), o efeito tipo-antidepressivo sinérgico entre *E. brasiliensis* e os antidepressivos citados sugere que esta planta pode ser benéfica para a otimização da farmacoterapia convencional (por exemplo, diminuindo a dose dos antidepressivos prescritos e consequentemente reduzindo seus efeitos colaterais).



## 7. CONCLUSÃO

Os extratos hidroalcoólicos de *E. brasiliensis*, *E. catharinae* e *E. umbelliflora*, apresentaram efeito tipo-antidepressivo no TSC em diferentes doses, sem causar alterações locomotoras no TCA.

O extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* apresentou os resultados mais significativos no TSC sem causar alteração na locomoção dos animais no TCA, descartando um possível efeito psicoestimulante.

Os resultados do presente estudo mostram que o efeito tipo-antidepressivo do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*, é dependente, ao menos em parte, de uma interação com os sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico.

Doses sub-ativas de fluoxetina, imipramina e bupropiona, administradas em conjunto com uma dose sub-ativa do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis* (0,1 mg/kg), produziram efeito tipo-antidepressivo no TSC, sem alterar a locomoção dos camundongos no TCA.





## PERSPECTIVAS

- Verificar o efeito do tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*.

- Realizar análises toxicológicas

- Realizar o fracionamento do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*, bem como a avaliação da atividade tipo-antidepressiva dos mesmos.

- Isolar e testar os compostos majoritários de diferentes frações do extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*.

- Verificar o efeito tipo-antidepressivo do extrato hidroalcoólico, frações e compostos isolados de *E. brasiliensis* em um modelo animal de depressão *per se*.

- Realizar a dosagem de neurotransmissores (serotonina, noradrenalina e dopamina) e seus metabólitos no hipocampo, córtex cerebral e estriado de animais submetidos ao tratamento agudo ou repetido com o extrato hidroalcoólico de *E. brasiliensis*.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, J. R. *Tratado de Fitomedicina - bases clínicas y farmacológicas*. ISIS Ediciones S. R. L., Buenos Aires, Argentina. p. 808-809, 1998.

APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; NTALANI, H.; VERIN, P.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M. Chemical composition of the essential oils from southern Brazilian *Eugenia* species. Part III. *J Essent Oil Res*, v. 14, n. 4, p. 259 – 262, 2002.

APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de espécies da família Myrtaceae. In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 15, Águas de Lindóia, *Anais.*, p.51, 1998.

APEL, M. A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. Chemical Composition of the Essential Oils of *Eugenia beaurepaireana* and *Eugenia pyriformis*: Section Dichotomae. *J Essent Oil Res*, v.16, n.3, p. 191-192, 2004b.

AKERELE, O. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. *Herbal Gram*, v. 28, p. 13-19, 1993.

ARAGÃO, G. F.; CARNEIRO, L. M.; JUNIOR, A.P.; VIEIRA, L.C.; BANDEIRA, P.N.; LEMOS, T. L.; VIANA, G. S. A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of alpha-and-beta-amyrin from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *Pharmacol Biochem Behav*, n. 85, p. 827–834, 2006.

ARTIGAS, F.; ROMERO, L.; DE MONTIGNY, C.; BLIER, P. Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT<sub>1A</sub> antagonists. *Trends Neurosci*, v. 19, p. 378-383, 1996.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga): propriedades farmacobotânicas, Lutz, v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.

BARAUNA, S. C.; KASTER, M. P.; HECKERT, B. T.; DO NASCIMENTO, K. S.; ROSSI, F. M.; TEIXEIRA, E. H.; CAVADA, B. S.; RODRIGUES, A. L.; LEAL, R. B. Antidepressant-like effect of lectin from *Canavalia brasiliensis* (ConBr) administered centrally in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, v. 85, p. 160-9, 2006.

BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci*, v. 7, p. 137-151, 2006.

BETTIO, L.E.; MACHADO, D.G.; CUNHA, M.P.; CAPRA, J.C.; MISSAU, F.C.; SANTOS, A.R.; PIZZOLATTI, M.G.; RODRIGUES, A.L. Antidepressant-like effect of extract from *Polygala paniculata*: involvement of the monoaminergic systems. *Pharm Biol*, v. 49, n. 12, p. 1277-85, 2011.

BLIER, P. Possible neurobiological mechanisms underlying faster onset of antidepressant action. *J Clin Psychiatry*, v. 11, p. 62-67, 2001.

BNOUHAM, M.; ZIYYAT, A.; MEKHFI, H.; TAHRI, A.; LEGSSYER, A. Medicinal plants with potential antidiabetic activity – a review of ten years of herbal medicine research 1990-2000. *Int J Diabetes Metabol*, v. 14, p. 1-25, 2006.

BINFARÉ, R.W.; MANTOVANI, M.; BUDNI, J.; SANTOS, A.R.; RODRIGUES, A.L. Involvement of dopamine receptors in the antidepressant-like effect of melatonin in the tail suspension test. *Eur J Pharmacol*, v. 638, p. 78-83, 2010.

BORSINI, F.; MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology (Berl)*, v. 94, n. 2, p. 147-160, 1988.

BOURIN, M.; CHENU, F.; RIPOLL, N.; DAVID, D. J. P. A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests. *Behav Brain Res*, v. 164, p. 266-269, 2005.

BRITO, F. A.; SAMPAIO, A. L. F.; RAMOS, M. F. S.; SIANI, A. C.; HENRIQUES, M. G. H. O. Avaliação da atividade antiinflamatória de extratos de espécies de Myrtaceae no modelo de edema de pata em

camundongos. In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 15, Águas de Lindóia, *Anais.*, p. 63, 1998.

BROCARD, P. S.; BUDNI, J. KASTER, M. P. SANTOS, A. R.; RODRIGUES A. L. Folic acid administration produces an antidepressant-like effect in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *Neuropharmacology*, v. 54, p. 464-73, 2008.

BRUNELLO, N.; MENDLEWICZ, J.; KASPER, S.; LEONARD, B.; MONTGOMERY, S.; NELSON, J.; PAYKEL, E.; VERSIANI, M.; RACAGNI, G. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur Neuropsychopharmacol*, v. 12, p. 461-475, 2002.

BHUTADA, P.; MUNDHADA, Y.; BANSOD, K.; UBGAD, A.; QUAZI, M.; UMATHE, S.; MUNDHADA, D. Reversal by quercetin of corticotrophin releasing factor induced anxiety- and depression-like effect in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 34, p. 955-960, 2010.

CALIXTO, J. B.; Desenvolvimento de medicamentos: Ensaios pré-clínicos. *Médicos*, p. 22-25, 1998.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res.*, v. 33, p. 179-189, 2000.

CELADA, P.; PUIG, V. M.; AMARGÓS-BOSCH, M.; ADELL, A.; ARTIGAS, F. The therapeutic role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in depression. *J Psychiatry Neurosci*, v. 29, p. 252-265, 2004.

CHIMENTI, F.; COTTIGLIA, F.; BONSIGNORE, L.; CASU, L.; CASU, M.; FLORIS, C.; SECCI, D.; BOLASCO, A.; CHIMENTI, P.; GRANESE, A.; BEFANI, O.; TURINI, P.; ALCARO, S.; ORTUSO, F.; TROMBETTA, G.; LOIZZO, A.; GUARINO, I. Quercetin as the active principle of *Hypericum hircinum* exerts a selective inhibitory activity against MAO-A: extraction, biological analysis, and computational study. *J Natl Prod*, v. 69, p. 945-949, 2006.

CLENET, F.; DE VOS, A.; BOURIN, M. Involvement of 5-HT<sub>2C</sub> receptors in the anti-immobility effects of antidepressants in the forced swimming test in mice. *Eur Neuropsychopharmacol*, v. 11, p. 145-152, 2001.

COELHO DE SOUZA, G.; HAAS, A. P. S.; VON POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *J Ethnopharmacol*, v. 90, p. 135-143, 2004.

CONSOLINI, A. E.; BALDINI, O. A. N.; AMAT, A. G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. *J Ethnopharmacol*, v. 66, p. 33-39, 1999.

COOPER, B. R.; HESTER, T. J.; MAXWELL, R. A. Behavioral and biochemical effects of the antidepressant bupropion (Wellbutrin): evidence for selective blockade of dopamine uptake in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*, v. 215, p. 127-134, 1980.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci*, v. 23, p. 238-245, 2002.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 29 (4-5), p. 571-625, 2005.

CRYAN, J. F.; O'LEARY, O. F.; JIN, S. H.; FRIEDLAND, J. C.; OUYANG, M.; HIRSCH, B. R.; PAGE, M. E.; DALVI, A.; THOMAS, S. A.; LUCKI, I. Norepinephrine-deficient mice lack responses to antidepressant drugs, including selective serotonin reuptake inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 101, n. 21, p. 8186-91, 2004.

DAILLY, E.; CHENU, F.; RENARD, C. E.; BOURIN, M. Dopamine, depression and antidepressants. *Fundam. Clin. Pharmacol*, v.18, p.601-607, 2004.

DANYSZ, W.; KOSTOWSKI, W.; KOZAK, W.; HAUPTMANN, M. On the role of noradrenergic neurotransmission in the action of desipramine and

amitriptyline in animal models of depression. *Pol J Pharmacol Pharm*, v. 38, p. 285-298, 1986.

DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL IV (DSM-IV)  
*American Psychiatric Press*, Washington, D.C. 2000.

CUMMINGS, J. L. The neuroanatomy of depression. *J Clin Psychiatry*, v. 11, p. 14-20, 1993.

D'AQUILA, P.; BRAIN, P. F.L; WILLNER, P. Effects of chronic mild stress in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiol Behav*, v. 56, p. 861-867, 1994.

D'AQUILA, P. S.; COLLU, M.; GESSA, G. L.; SERRA, G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. *Eur J Pharmacol*, v. 405, p. 365-73, 2000.

DUMAN, R. S. Depression: A case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry*, v. 56, p. 140-145, 2004.

DUMAN, R. S. Neurotrophic factors and regulation of mood: role of exercise, diet and metabolism. *Neurobiol Ageing*, v. 26, p. 88-93, 2005.

DUMAN, R. S.; MALBERG, J.; NAKAGAWA, S.; D'AS C. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry*, v. 48, p. 732-739, 2000.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders, *Biol Psychiatry*, v. 59, p. 1116-1127, 2006.

DWOSKIN, L. P.; NEAL, B. S.; SPARBER, S. B. Evidence for antiserotonergic properties of yohimbine. *Pharmacol Biochem Behav*, v. 31, n. 2, p. 321-6, 1988.

EBMEIER, K. P.; DONAGHEY, C.; STEELE, J.C. Recent developments and current controversies in depression. *Lancet*, v. 367, p. 153-167, 2006.

ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry*, v. 28, p. 435-451, 2004.

FARNSWORTH, N. R. The development of pharmacological and chemical research for application to traditional medicine in developing countries. *J Ethnopharmacol*, v. 2, p. 173-181, 1980.

FILE, S.E. Recent developments in anxiety, stress, and depression. *Pharmacol Biochem Behav*, v. 54, p. 3-12, 1996.

FISCHER, D. C. H.; KATO, E. T. M.; KONISHI S. T. Pharmacognostic characterization of leaves and stem barks of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae). *Rev Bras Pl Med*, v. 6, p. 1: 15-22, 2003.

FISCHER, D. C. H.; LIMBERGER, R. P.; HENRIQUES, A. T.; MORENO, P. R. H. Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from southeastern Brazil. *J Essent Oil Res*, v.17; p. 499 – 500, 2005.

FLECK, M. P. A.; LAFER, B.; SOUGEY, E. B.; PORTO, J. A.; BRASIL, M. A.; JURUENA, M. F. Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (versão integral). *Rev Bras Psiquiatr*, v. 25, p. 114-122, 2003.

FONTENELLE, G. B.; COSTA, C. G.; MACHADO, R. D. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Bot J Linn Soc*, v.115, p. 111-133, 1994.

FRANCO, I. J.; FONTANA, V. L. *Ervas e Plantas – A Medicina dos Simples*. Editora Livraria Vida LTDA. 11 Ed. Erechim, Brasil, p. 161, 2004.

FRAZER, A. Norepinephrine involvement in antidepressant action. *J Clin Psychiatry*, v. 1, p. 25-30, 2000.

FREITAS, A. E.; BUDNI, J.; LOBATO, K. R.; BINFARÉ, R. W.; MACHADO, D. G.; JACINTO, J.; VERONEZI, P. O.; PIZZOLATTI, M. G.; RODRIGUES, A. L. S. Antidepressant-like action of the ethanolic extract from *Tabebuia avellanedae* in mice: Evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 34, p. 335-343, 2010.

FRIGHETTO, N.; WELENDORF, R. M.; SILVA, A. M. P.; NAKAMURA, M. J.; SIANI, A. C. Aplicação de cromatografia



centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. *Rev Bras Farmacogn*, v. 15, n. 4, p. 338 – 343, 2005.

GBOLADE, A. A.; ILESANMI, O. R.; ALADESANMI, A. J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. *Phytother Res*, v. 10, p. 613-615, 1996.

GERACIOTI, T. D. JR.; LOOSEN, P. T.; EKHATOR, N. N.; SCHMIDT, D.; CHAMBLISS, B.; BAKER, D. G.; KASCKOW, J. W.; RICHTAND, N. M.; KECK, P. E. JR.; EBERT, M. H. Uncoupling of serotonergic and noradrenergic systems in depression: preliminary evidence from continuous cerebrospinal fluid sampling. *Depress Anxiety*, v. 6, p. 89-94, 1997.

GORMAN, J. M.; SULLIVAN, G. Noradrenergic approaches to antidepressant therapy. *J. Clin. Psychiatry*, v. 1, p. 13-6, 2000.

GOTTLIEB, O. R.; LEÃO-DA-SILVA, M.; MAIA, J. G.; SOARES, M. Chemistry of brasilian Myrtaceae. III. Eucaliptin from *Eugenia* and *Myrcia* species. *Phytochemistry*, v.11, n.3, p.1185, 1972.

GUTIÉRREZ-GARCÍA, A. G.; CONTRERAS, C. M. Stressors can affect immobility time and response to imipramine in the rat forced swim test. *Pharmacol Biochem Behav*, v. 91, n. 4, p. 542-8, 2008.

HARVEY, A. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Drug Discov Today*, v. 5, n. 7, p. 294-300, 2000.

HENSLER, J.G. Differential regulation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors-G protein interactions in brain following chronic antidepressant administration. *Neuropsychopharmacology*, v.26, p.565-573, 2002.

HIRANO, S.; MIYATA, S.; ONODERA, K.; KAMEI, J. Involvement of dopamine D<sub>1</sub> and  $\alpha_1$ -adrenoceptors in the antidepressant-like effect of chlorpheniramine in the mouse tail suspension test. *Eur J Pharmacol*, v. 562, p. 72-76, 2007.

HOLTZHEIMER, P. E.; NEMEROFF, C. B. Advances in the treatment of depression. *J NeuroRx*, v. 3, p. 42-56, 2006.

HOYER, D.; PAZOS, A.; PROBST, A.; PALACIOS, J. M. Serotonin receptors in the human brain: II. Characterization and autoradiographic localization of 5-HT<sub>1C</sub> and 5-HT<sub>2</sub> recognition sites. *Brain Res*, v. 376, p. 97-107, 1986.

HUSSEIN, S. A. M.; HASHEM, A. N. M.; SELIEM, M. A.; LINDEQUIST, U.; NAWWAR, M. A. M. Polyoxigenated flavonoids from *Eugenia edulis*. *Phytochemistry*, v. 64, p. 883- 889, 2003.

ISHIHARA, K.; SASA, M. Potentiation of 5-HT<sub>3</sub> receptor functions in the hippocampal CA1 region of rats following repeated electroconvulsive shock treatments. *Neurosci Lett*, v. 307, p. 37-40, 2001.

JOCA, S. R. L.; SKALISZ, L. L.; BEIJAMINI, V.; VITAL, M. A. B. F.; ANDREATINI R. The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission. *Eur Neuropsychopharmacol*, v. 10, p. 223-228, 2000.

JORGE, L. I. F.; FERRO, V. O.; OLIVEIRA, I. Exame diagnóstico das folhas e dos frutos de *Plinia glomerata* (BERG) Amsh. (cabeludinha) e de *Eugenia pyriformis* Camb.(uvalha). *Rev Bras Farmacogn*, v.77,n.1, p.7-10, 1996.

KASTER M. P.; SANTOS A. R.; RODRIGUES A. L. Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the antidepressant-like effect of adenosine in the mouse forced swimming test. *Brain Res Bull*, v. 67, n. 1-2, p. 53-61, 2005.

KAUR, R.; CHOPRA, K.; SINGH, D. Role of alpha2 receptors in quercetin-induced behavioral despair in mice. *J Med Food*, v. 10, p. 10-165, 2007.

KESSLER, R. C.; SOUKUP, J.; DAVIS, R. B.; FOSTER, D. F.; WILKEY, S. A.; VAN ROMPAY, M. I.; EISENBERG, D. M. The use of complementary and alternative therapies to treat anxiety and depression in the United States. *Am J Psychiatry*, v. 158, p. 289-294, 2001.

KHISTI, R. T.; CHOPDE, C. T. Serotonergic agents modulate antidepressant-like effect of the neurosteroid 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one in mice. *Brain Res*, v. 865, p. 291-300, 2000.

KITADA, Y.; MIYAUCHI, T.; KANAZAWA, Y.; NAKAMICHI, H.; SATOH, S. Involvement of  $\alpha$ - and  $\beta_1$ -adrenergic mechanisms in the immobility-reducing action of desipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology*, v. 22, p. 1055-1060, 1983.

KÖRBES, C. V. *Manual de plantas medicinais*. Francisco Beltrão:Associação de Estudos, Orientação e Assistência Rural, p. 152, 1995.

KRISHNAN, K. R.; DORAISWAMY, P. M.; FIGIEL, G. S.; HUSAIN, M. M.; SHAH, S. A.; NA, C.; BOYKO, O. B.; MCDONALD, W. M.; NEMEROFF, C. B.; ELLINWOOD, E. H. JR. Hippocampal abnormalities in depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, v. 3, p. 387-391, 1991.

KUSKOSKI, E. M.; VEGA, J. M.; RIOS, J. J.; FETT, R.; TRONCOSO, A. M.; ASUERO, A. G. Characterization of anthocyanins from the fruits of baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg). *J Agric Food Chem*, v. 51, p. 5450-5454, 2003.

LAASONEN-BALK, T., KUIKKA, J., VIINAMAKI H., HUSSO-SAASTAMOINEN, M., LEHTONEN, J., TIIHONEN, J. Striatal dopamine transporter de density in major depression. *Psychopharmacology*, v.144, p.282-285, 1999.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O.; DE LIMA, T. C. M. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento/Organizado por SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Porto Alegre/Florianópolis: ed.Universidade/UFRGS/ed. UFSC, p. 181-196, 1999.

LEE, M.; NISHIMOTO, S.; YANG, L.; YEN, A. Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysisable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. *Phytochemistry*, v. 44, p. 1343-1349, 1997.

LOBATO K. R. Avaliação do efeito antidepressivo da vitamina E em modelos animais de depressão. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil, 2009.

MCARTHUR, R.; BORSINI, F. Animal models of depression in drug discovery: A historical perspective. *Pharmacol Biochem Behav*, v. 84, p. 436-452, 2006.

MACGILLIVRAY, S.; ARROLL, B.; HATCHER, S.; OGSTON, S.; REID, I.; SULLIVAN, F.; WILLIAMS, B.; CROMBIE, I. Efficacy and tolerability of selective serotonin reuptake inhibitors compared with tricyclic antidepressants in depression treated in primary care: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, v. 326, p. 1014-1020, 2003.

MACHADO, D. G.; Bettio, L. E.; Cunha, M. P.; Capra, J. C.; Dalmarco, J. B.; Pizzolatti, M. G.; Rodrigues, A. L. S. Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: involvement of the monoaminergic system. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 33(4), p. 642-650, 2009.

MACHADO, D. G.; BETTIO, L. E.; CUNHA, M. P.; SANTOS, A. R.; PIZZOLATTI, M. G.; BRIGHENTE, I. M.; RODRIGUES, A. L. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *Eur J Pharmacol*, v. 587 (1-3), p. 163-168, 2008.

MACHADO, K. E.; CECHINEL FILHO, V.; TESSAROLO, R.; MALLMANN, C.; MEYRESILVA, C.; BELLA CRUZ, A. Potent antibacterial activity of *Eugenia umbelliflora*. *Pharm Biol*, v. 43, p. 636-639, 2005.

MACHADO, D.G.; KASTER, M. P.; BINFARÉ, R. W.; DIAS, M.; SANTOS, A. R. S.; PIZZOLATTI, M. G.; BRIGHENTE, I. M.; RODRIGUES, A. L. S. Antidepressant-like effect of the extract from leaves of *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 31, p. 421-428, 2007.

MAGARIÑOS, A. M.; MCEWEN, B. S. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 neurons: comparison of stressors. *Neuroscience*, v. 69, p. 83-88, 1995.

MAGARIÑOS, A. M.; VERDUGO, J. M.; MCEWEN, B. S. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 94, p. 14002-14008, 1997.

MAGINA, M. D. A. Estudo Fitoquímico e Biológico de Espécies do Gênero *Eugenia*. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil, 2008.

MASUDA, Y.; OHNUMA, S.; SUGIYAMA, T.  $\alpha_2$ -adrenoceptor activity induces the antidepressant-like glycolipid in mouse forced swimming. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, v. 23, p. 19-21, 2001.

MCGARRY, H.; PIROTTA, M.; HEGARTY, K.; GUNN, J. General practitioners and St. John's Wort: a question of regulation or knowledge? *Complement Ther Med*, v. 15, n. 2, p. 142-8, 2007.

MILLAN, M. J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant. *Eur. J. Pharmacol*, v. 500, p.371-384, 2004.

MOREIRA, J. J. S.; PEREIRA, P. S.; MOREL, A. F. Utilização de ciclodextrinas modificadas como suporte sólido CG enantiosseletiva na separação de constituintes quirais monoterpênicos. In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 14, Florianópolis, 1996. Anais. Florianópolis, p. 169, 1996.

NESTLER, E. J.; BARROT, M.; DILEONE, R. J.; EISCH, A. J.; GOLD, S. J.; MONTEGGIA, L. M. Neurobiology of depression. *Neuron*, v. 34, p. 13-25, 2002.

NESTLER, E. J.; CARLEZON, W. A. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol Psychiatry*, v. 59, p. 1151-1159, 2006.

NEMEROFF, C. B. The burden of severe depression: A review of diagnostic challenges and treatment alternatives. *J Psychiatr Res*, v. 41, p. 189-206, 2007.

NEMEROFF, C. B.; OWENS, M. J. Treatment of mood disorders. *Nat Neurosci*, v. 5, p. 1068-1070, 2002.

NÖLDNER, N.; SCHÖTZ, K. Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. *Planta Med*, v. 68, n. 7, p. 577-80, 2002.

NUTT, D. J. The role of dopamine and norepinephrine in depression and antidepressant treatment. *J Clin Psychiatry*, v. 67, p. 3-8, 2006.

O'NEILL, M. F.; OSBORNE, D. J.; WOODHOUSE, S. M.; CONWAY, M. W. Selective imidazoline I2 ligands do not show antidepressant-like activity in the forced swim test in mice. *J Psychopharmacol*, v. 15, p. 18-22, 2001.

PÁEZ-PEREDA, M. New drug targets in the signaling pathways activated by antidepressants. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 29, p. 1010-1016, 2005.

PAPAKOSTAS, G. I. Dopaminergic-based pharmacotherapies for depression. *Eur Neuropsychopharmacol*, v. 16, p. 391-402, 2006.

PAPAKOSTAS, G. I.; THASE, M. E.; FAVA, M.; NELSON, J. C.; SHELTON, R. C. Are antidepressant drugs that combine serotonergic and noradrenergic mechanisms of action more effective than the selective serotonin reuptake inhibitors in treating major depressive disorder? A meta-analysis of studies of newer agents. *Biol Psychiatry*, v. 62, p. 1217-1227, 2007.

PITTENGER, C.; DUMAN, R. S. Stress, Depression, and neuroplasticity: A convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacol*, v. 33, p. 88-109, 2008.

PORSOLT, R.D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, v. 266, p. 730-732, 1977.

POST, R.M. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. *Am J Psychiatry*, v. 149, p. 999-1010, 1992.

PORTER, E. A.; SIMMONS, M. S. J.; NICLUHADHA, E. Taxionomic implications of polyhydroxi alkaloids in the Myrtaceae. In: Joint meeting of: American society of pharmacognosy, association française pour l'enseignement et la recherche en pharmacognosie, gesellschaft fuer arzneipflanzenforschung, phytochemical society of Europe, Amsterdam, *Anais*, 1999.

REDROBE, J. P.; BOURIN, M. Clonidine potentiates the effects of 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> antagonists and 8-OH-DPAT in the mouse forced swimming test. *Eur Neuropsychopharmacol*, v. 8, p. 169-173, 1998.

REDROBE, J.P.; BOURIN, M. Partial role of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors in the activity of antidepressants in the mouse forced swimming test. *Eur J Pharmacol*, v. 325, p. 129-135, 1997.

REITZ, R. D.; KLEIN, R. M. Mirtáceas. In: *Flora Ilustrada Catarinense* (Reitz, P. R., ed), I parte. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p. 63, 1969.

REVILLA, J. *Plantas úteis da bacia amazônica*. Rio de Janeiro: Inpa, v. 44, 2002.

RISCH, S. C.; NEMEROFF, C. B. Neurochemical alterations of serotonergic neuronal systems in depression. *J Clin Psychiatry*, v. 53, p. 3-7, 1992.

ROCHA, F. F.; LIMA-LANDMAN, M. T.; SOUCCAR, C.; TANAE, M. M.; DE LIMA, T. C.; LAPA, A. J. Antidepressant-like effect of *Cecropia glaziovii* Sneth and its constituents – In vivo and in vitro characterization of the underlying mechanism. *Phytomedicine*, v. 14, p. 396-402, 2007.

ROCHA, M. A.; PUECH, A. J.; THIEBOT, M. H. Influence of anxiolytic drugs on the effects of specific serotonin reuptake inhibitors in the forced swimming test in mice. *J Psychopharmacol*, v. 11, p. 211-218, 1997.

RODRIGUES, A. L. S.; ROCHA, J. B. T.; MELLO, C. F.; SOUZA, D. O. Effect of perinatal lead exposure on rat behavior in open-field and two-way avoidance tasks. *Pharmacol Toxicol*, v. 79, p. 150-156, 1996.

RUDOLPH, R.L. Achieving remission from depression with venlafaxine and venlafaxine extended release: a literature review of comparative studies with selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, v. 415, p. 24-30, 2002.

SAABY, L.; RASMUSSEN, H. B.; JÄGER, A. K. MAO-A inhibitory activity of quercetin from *Calluna vulgaris* (L.) Hull. *J Ethnopharmacol*, v. 121, p. 178-181, 2009.

SAPOLSKY, R. R. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*, v. 57, p. 925-929, 2000.

SCHECHTER, L. E.; RING, R. H.; BEYER, C. E.; HUGHES, Z. A.; KHAWAJA, X.; MALBERG, J. E. Innovative approaches for the development of antidepressant drugs: current and future strategies. *NeuroRx*, v. 2, p. 590-611, 2005.

SHELINE, Y.I.; WANG, P. W.; GADO, M.H.; CSERNANSKY, J.G.; VANNIER, M. W. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 93, p. 3908-3913, 1996.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*, v. 122, p. 509-522, 1965.

SCHUTZ, A.R. *Introdução à botânica sistemática*. 5 ed. Porto Alegre: Ed UFRGS, 1980.

SILVA, M. G.; OHARA, M. T.; KATO, E. T. M; MAIA, J. G. F.; ANDRADE, E. H.; YOSHIDA, M. Estudo farmacognóstico de *Myrciaria glomerata* In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil, Recife, *Anais.*, p.172, 2000.

SOUZA, G. C.; HAAS, A. P. S.; VON POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ELISABETZKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil., *J Ethnopharmacol*, v. 90, p. 135-143, 2004.

SOUZA, M. C.; MENEZES-LIMA-JUNIOR, I.; ROSAS, E. C.; RAMOS, M. F. S.; SIANI, A. C.; HENRIQUES, M. G. O. Avaliação



imunofarmacológica de extratos de *Eugenia florida* e *Eugenia brasiliensis*. In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 15, Águas de Lindóia, *Anais*, p. 64, 1998.

STAHL, S. M.; ENTSUAH, R.; RUDOLPH, R.L. Comparative efficacy between venlafaxine and SSRIs: a pooled analysis of patients with depression. *Biol Psychiatry*, v. 52, p. 1166-1174, 2002.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacol*, v. 85, p. 367-370, 1985.

SZABO, S. T.; BLIER, P. Effect of the selective noradrenergic reuptake inhibitor reboxetine on the firing activity of noradrenaline and serotonin neurons. *Eur J Neurosci*, v. 13, p. 2077-2087, 2001a.

SZABO, S. T.; BLIER, P. Functional and pharmacological characterization of the modulatory role of serotonin on the firing activity of locus coeruleus norepinephrine neurons. *Brain Res*, v. 922, p. 9-20, 2001b.

TACHIL, A. F.; MOHAN, R.; BHUGRA, D. The evidence base of complementary and alternative therapies in depression. *J Affect Disord*, v. 97, p. 23-35, 2007.

TAYLOR, C.; FRICKER, A. D.; DEVI, L. A.; GOMES, I. Mechanisms of action of antidepressants: from neurotransmitter systems to signaling pathways. *Cel Signal*, v.17, p. 549-557, 2005a.

TESKE, M.; TRENTINI A. M. M. *Compêndio de Fitoterapia*, 2a. ed., Herbarium Lab. Botânico, Curitiba, Paraná, 1995.

TESTE, J. F.; MARTIN, I.; RINJARD, P. Electrotherapy in mice: dopaminergic and noradrenergic effects in the tail suspension test. *Fundam Clin Pharmacol*, v. 4, p. 39-47, 1990.

TIMBOLA, A. K.; SZPOGANICZ, B.; BRANCO, A.; MONACHE, F. D.; PIZZOLATTI, M. G. A new flavonol from leaves of *Eugenia jambolana*. *Fitoterapia*, v. 73, p. 174 –176, 2002.

VIEGAS, J. C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WAEHRENS, J.; GERLACH, J. Bromocriptine and imipramine in endogenous depression. A double-blind controlled trial in out-patients. *J Affect Disord*, v. 3, p. 193-202, 1981.

WANG, R.; XU, Y.; WU, H.L.; LI, Y.B.; LI, Y.H.; GUO, J.B.; LI, X.J. The antidepressant effects of curcumin in the forced swimming test involve 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Eur J Pharmacol*, v. 578, n. 1, p. 43–50, 2008.

WATANABE, F. K.; HENRIQUES, A. T.; YOUNG, M. C. M.; APEL, M. A. Composição do óleo essencial de Myrtaceae da ilha do Cardoso – SP. I: *Eugenia Flaveces*, *Marliera obscura*, *Gomidesia spectabilis*. Universidade de São Paulo/USP, Instituto de química. Disponível em: [http://www.usp.br/sucusp/10osucusp/cd\\_2002/ficha2053.htm](http://www.usp.br/sucusp/10osucusp/cd_2002/ficha2053.htm). Acesso em 10 de Novembro de 2010.

WAZLAWIK, E.; SILVA, M. A.; CORREIA, J. F. G.; PETERS, R. R.; FARIAS, M. R.; RIBEIRO-DO-VALE, R. M. Estudo farmacológico das frações acetato de etila e aquosa do extrato bruto hidroalcoólico das folhas de *Eugenia uniflora*. In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 14, Florianópolis, 1996. Anais. Florianópolis, p.106, 1996.

WILKES, S. Bupropion. *Drugs Today* (Barc.), v. 42, p. 671-681, 2006.

WILLNER, P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)*, v. 134, p. 319–29, 1997.

WILLNER, P.; MUSCAT, R.; PAPP, M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*, v.16, p.525–34, 1992.

WILLNER, P.; HALE, A. S.; ARGYROPOULOS, S. Dopaminergic mechanism of antidepressant action in depressed patients. *J Affect Dis*, v. 86, p. 37-45, 2005.

WONG, M.; LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci*, v. 2, p. 343-351, 2001.

WONG, D. T.; PERRY, K. W.; BYMASTER, F. P. The discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nat. Rev. Drug Discov*, v.4, p.764-774, 2005.

YAMADA, J.; SUGIMOTO, Y.; YAMADA, S. Involvement of dopamine receptors in the anti-immobility effects of dopamine re-uptake inhibitors in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol*, v. 504, p. 207-211, 2004.

ZOMKOWSKI, A. D. E.; ROSA, A. O.; LIN, J.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B.; RODRIGUES, A. L. S. Evidence for serotonin receptor subtypes involvement in agmatine antidepressant-like effect in the mouse forced swimming test. *Brain Res*, v. 1023, p. 253-263, 2004.